



FACULDADE VÉRTICE – UNIVÉRTIX
SOCIEDADE EDUCACIONAL GARDINGO LTDA. – SOEGAR

TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDICINA VETERINÁRIA – 2014/02



COORDENAÇÃO DE CURSO: PROF. D. SC. GILBERTO VALENTE MACHADO.
PROFESSORA RESPONSÁVEL: PROF^A. M. SC. RENATA APARECIDA FONTES.

MATIPÓ, 2014.

SUMÁRIO

AÇÃO DAS SEMENTES DE MAMÃO (<i>CARICA PAPAYA L.</i>) E DE ABÓBORA (<i>CUCURBITA PEPO L.</i>) SOBRE HELMINTOS GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS 2	
COMPARAÇÃO ENTRE AS TAXAS DE PRENHÊS DE RECEPTORAS INOVULADAS NO D2 COM SUPLEMENTAÇÃO DE PROGESTERONA E RECEPTORAS INOVULADAS NO D5 SEM PROGESTERONA.....	15
COMPORTAMENTO ANATÔMICO DO MÚSCULO BRAQUIORRADIAL EM CARNÍVOROS SILVESTRES	30
INCIDÊNCIA DE OTITE EXTERNA EM CÃES ATENDIDOS NA CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS DA FACULDADE VÉRTICE, EM MATIPÓ, MINAS GERAIS.	50
TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO COM LOCALIZAÇÃO CONJUNTIVAL E METÁSTASE CUTÂNEA, HEPÁTICA E ESPLÊNICA: RELATO DE CASO	62
NATIMORTALIDADE NA SUINOCULTURA INDUSTRIAL	79
TRATAMENTOS CIRÚRGICOS DAS DEFORMIDADES FLEXURAS EM EQUINOS: RELATO DE TRÊS CASOS	103
AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CRIOPROTETORES PARA CONGELAMENTO DE SÊMEN DE GARANHÕES DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR	120
EFEITO DA DILUIÇÃO DE SÊMEN DE GARANHÕES EM MEIO À BASE DE GEMA DE OVO PÓS-DESCONGELAMENTO	132
TUMOR OVARIANO EM ÉGUAS – RELATO DE CASO	152
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS	169
LAMINITE EM EQUINOS	184

AÇÃO DAS SEMENTES DE MAMÃO (*Carica papaya L.*) E DE ABÓBORA (*Cucurbita pepo L.*) SOBRE HELMINTOS GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS



Acadêmica: Tassyane Ferreira Silva

Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

Com o objetivo de pesquisar *in vitro* e *in vivo* as atividades anti-helmínticas das sementes de mamão (*Carica papaya L.*) e de abóbora (*Cucurbita pepo L.*) sobre nematoides gastrintestinais de bovinos, foram utilizados extratos aquosos de sementes de mamão e de abóbora, nas concentrações de 10 e 100mg/ml. No teste de inibição do desenvolvimento de ovos foram utilizados ovos e extratos de abóbora, mamão e água destilada (controle). Para a inibição das larvas de terceiro estágio, foram adicionados larvas e extratos aquosos ou água destilada (controle). No teste *in vivo*, os animais receberam pó de sementes de abóbora ou de mamão e o controle (placebo), por três dias consecutivos. Nos dias zero, 10, 20, 30 foi realizada análise parasitológica. No teste com os ovos, os grupos tratados com abóbora apresentaram percentuais de eficácia na redução do desenvolvimento embrionário de 90,51% e 67,56%. Para o tratamento com mamão as eficácias foram de 98,72% e 96,15%. No teste com larvas o grupo tratado com 10mg/ml de extrato de abóbora não diferiu do controle ($P>0,05$), os demais grupos diferiram ($P<0,01$). Nos testes *in vivo*, a dose testada foi incapaz de controlar os helmintos de bovinos. Necessitando mais estudos que possam determinar a dose ótima para bovinos.

PALAVRAS-CHAVE: Mamão; abóbora; helmintos; bovinos.

INTRODUÇÃO

A criação de bovino é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial. Atualmente o Brasil é dono do segundo maior rebanho comercial do mundo, com cerca de 200 milhões de cabeças. Além disso, desde 2004, assumiu a liderança nas exportações, com um quinto da carne comercializada internacionalmente e vendas em mais de 180 países (BRASIL, 2014). Entre os estados brasileiros com maior rebanho bovino, o estado de Minas Gerais ganha destaque com o segundo maior efetivo bovino do Brasil, aproximadamente 22 milhões de cabeças de gado, ficando atrás apenas do estado do Mato Grosso. Minas Gerais é o estado com maior produção de leite, responsável por cerca de 27% da produção total do Brasil (IBGE, 2014).

Um dos grandes vilões na produção bovina no Brasil, principalmente em bovinos criados em pastagem natural, é a exposição a infecções por endoparasitas, particularmente os nematoides dos gêneros *Cooperia*, *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Strongyloides*, *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* e *Dictyocaulus*. Os prejuízos ocasionados por essas infecções estão relacionados com a queda na produção, retardo no crescimento do animal, custos com tratamento médico veterinário, com os

recursos terapêuticos a serem empregados e, em algumas situações com os prejuízos advindos da morte desses animais (ARAÚJO e SAMPAIO, 2000).



O combate às verminoses é um dos grandes problemas encontrados na bovinocultura, sendo atualmente realizado por meio do uso de anti-helmínticos sintéticos. Porém, esse procedimento apresenta alguns problemas, como altos custos, perigo de contaminação ambiental e preocupação do consumidor com relação aos resíduos das drogas nos produtos de origem animal, tais como carne e leite (CHAGAS, 2004; CAMURÇA-VASCONCELOS, 2006). Com base nessas dificuldades buscam-se alternativas para o controle dos helmintos; uma delas é a utilização de plantas com atividade anti-helmíntica, que representa uma alternativa sustentável à quimioterapia convencional (CHAGAS, 2004; FURTADO, 2005, 2006; GITHIORI *et al.*, 2006; ATHANASIADOU *et al.*, 2007).

Diversas espécies vegetais possuem princípios ativos com propriedades nematicidas ou nematostáticas, dentre elas as sementes de abóbora e de mamão, condimentares e aromáticas, bem como muitas espécies selvagens (PANDEY, 1990).

Portanto, plantas medicinais podem ser a fonte de novos anti-helmínticos com novos modos de ação, apesar da falta de estudos científicos que comprovem a atividade anti-helmíntica de plantas, dificultar o seu uso em Medicina Veterinária.

Este trabalho teve por objetivo avaliar *in vitro* e *in vivo* as atividades anti-helmínticas das sementes de mamão e de abóbora sobre os nematoides gastrintestinais de bovinos naturalmente infectados.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Sementes de abóbora são utilizadas para o controle de verminoses na medicina popular (CAILI *et al.*, 2006).

A atividade anti-helmíntica das sementes de mamão (*Carica papaya* L.) e abóbora (*Cucurbita pepo* L.) foi comprovada em estudos recentes com peixes e carneiros desenvolvidos por Fujimoto *et al.* (2012) e Nogueira *et al.* (2009).

O óleo destilado em vapor de sementes secas e frescas de mamão (*C. papaya*) demonstrou propriedades nematicidas sobre fitonematoides (*Caenorhabditis elegans* e *Meloidogyne incognita*). O princípio ativo benzilisothiocianato foi identificado como responsável por essa ação, demonstrando, *in vitro*, atividade nematicida superior à do carbofurano (NAGESH *et al.*, 2002).

A semente de abóbora possui um componente chamado cucurbitacina que possui ação anti-helmíntica. Em estudos clínicos com humanos foi observado que as sementes podem ser benéficas para pessoas com infecção de vermes. Em estudos realizados com animais infectados, as sementes de abóbora também apresentaram resultados benéficos em relação a esses problemas (MAHMOUDO *et al.*, 2002).

Sousa *et al.* (2008), avaliaram a atividade *in vitro* da semente de jerimum (*Cucurbita pepo* L.) sobre ovos e larvas de nematoides gastrintestinais em caprinos. Observaram que o extrato etanólico foi capaz de cessar o desenvolvimento de 40 a 63% dos ovos, demonstrando dessa forma que a semente de jerimum figura como uma boa alternativa para o controle de helmintoses em caprinos. Já em relação às larvas desses vermes, o efeito do extrato foi observado mesmo em baixas concentrações, potencializando a ação deste, e inviabilizando 92,91% das larvas na concentração de 50%. Com base nos resultados, o extrato da semente de jerimum demonstrou efetividade, tendo, assim, potencial anti-helmíntico natural.

Almeida *et al.* (2007) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a eficácia do uso das folhas do melão-de-são-caetano (*M. charantia*), do Farelo de Batata de Purga (*O. hamiltonii*) e do Farelo da Semente de Jerimum (*C. pepo*) em infecções helmínticas de caprinos naturalmente parasitados. A metodologia utilizada foi o estudo qualitativo da contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Os percentuais de redução encontrados pós-tratamento, com as plantas medicinais estudadas, são consideráveis para o controle de helmintos gastrintestinais de caprinos, indicando como uma alternativa ecologicamente viável para o controle das helmintoses gastrintestinais de caprinos naturalmente infectados.

Batatinha *et al.* (2004), testando plantas medicinais anti-helmínticas, avaliaram a ação *in vitro* dos extratos aquosos de *Carica papaya* (mamão) e *Musa cavendishii* (banana) sobre larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos. O mamão mostrou uma eficácia de 95% na redução da eclosão de ovos de *Haemonchus sp.* e *Oesophagostomum sp.* em coproculturas.

Nogueira *et al.* (2009), avaliaram a eficácia das sementes do mamão, da bucha paulista e do melão-de-são-caetano no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos criados em sistema de produção de frutas irrigadas no Vale do São Francisco. Os ovinos foram distribuídos em cinco grupos de tratamentos de seis animais, de forma homogênea com relação à idade, sexo, peso e número médio de ovos por grama de fezes (OPG). Os resultados obtidos não

foram satisfatórios e uma possível explicação foram as condições desfavoráveis do meio ambiente e o baixo estado nutricional dos animais que podem ter influenciado negativamente. Fazem-se necessários novos estudos, atentando-se para a nutrição dos animais.



Fujimoto *et al.*, (2012) realizaram um estudo com sementes de abóbora e mamão desidratadas e trituradas para o controle de helmintos parasitos de peixes (*Astyanax cf. zonatus*). Sessenta peixes foram distribuídos em doze recipientes, observando a relação de um peixe/litro. O experimento consistiu de quatro tratamentos em três repetições. A eficácia foi determinada, verificando a presença de parasitos nas brânquias, no estômago e no intestino dos animais, que após o período experimental, foram pesados, sacrificados e analisados. O resultado mostrou-se eficaz, podendo assim concluir que a alimentação com abóbora pode ser utilizada como um controle alternativo de nematoides intestinais do lambari. A alimentação com semente de mamão demonstrou eficiência, entretanto, sua eficácia não foi acima de 90%.

Este é o primeiro trabalho que busca avaliar a ação das sementes de abóbora e mamão sobre nematoides gastrintestinais de bovinos.

METODOLOGIA

1- Preparo das sementes e do extrato aquoso

As sementes de mamão e de abóbora foram colocadas durante 36 horas em estufa com temperatura ajustada em 60°C e, posteriormente, trituradas em multiprocessador por aproximadamente 10 segundos, e armazenadas em frascos âmbar à temperatura ambiente.

Para obtenção do extrato aquoso das sementes de mamão e de abóbora foi utilizado 1 grama das sementes secas e trituradas e sobre estas foram vertidos 10 ml de água fervente. A mistura permaneceu em infusão por uma hora. Após este período, quando a água já estava fria, procedeu-se uma filtração em papel de filtro, formando-se um extrato na concentração de 100mg da planta por ml da solução. O extrato inicial foi diluído obtendo-se uma solução na concentração de 10mg/ml. Nos testes *in vitro* foram utilizados extratos nas concentrações de 10mg/ml e 100mg/ml.

2- Obtenção de ovos e larvas (L3)

Para a obtenção dos ovos de helmintos foram coletadas fezes diretamente da ampola retal de bovinos da região de Matipó-MG. As fezes foram dissolvidas em

solução salina hipersaturada e filtradas em tamizes de malhas de 250 mn/ μ m e 180 mn/ μ m. O material obtido foi centrifugado a 2.000 rpm por dois minutos e o sobrenadante foi submetido a três lavagens consecutivas com água destilada (2.000 rpm/2min). Na última lavagem o sedimento foi mantido com um pequeno volume de líquido, que foi diluído ou concentrado para obtenção de uma solução contendo $2,5 \times 10^3$ ovos /ml.

Os bovinos se infectam através da ingestão de larvas de terceiro estágio (L3) presentes nas pastagens, dando início à fase de vida parasitária. As larvas ingeridas se alojam nos órgãos de predileção (abomaso ou intestinos) onde, após uma rápida passagem pela parede e retorno à luz destes órgãos, se desenvolvem até vermes adultos, iniciando a ovispostura após a realização da cópula (TAYLOR *et al.*, 2010).

Por isso, as larvas de terceiro estágio (L3) foram obtidas das fezes de bovinos naturalmente infectados através da coprocultura, por 15 dias, e foram posteriormente selecionadas pela utilização do funil de Baermann, colocando-se água a 42-45°C, aguardando-se 12h. Após esse período foi preparada uma solução com a concentração de 500 larvas por ml.

3- Testes *in vitro*

A) Ensaio 1- Inibição do desenvolvimento de ovos de nematoides

Foram utilizados três tubos de ensaio para cada tratamento e para o controle. Nos tubos dos grupos tratados foram adicionados 200 μ l da suspensão de ovos, aproximadamente 500 ovos, e 200 μ l do extrato aquoso das sementes de abóbora e de mamão nas concentrações de 10mg/ml e 100mg/ml. No grupo controle, os tubos receberam 200 μ l da suspensão de ovos e 200 μ l de água destilada. Os tubos de ensaio foram incubados em estufa à temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, no escuro, durante 72h. Após esse período, o conteúdo dos tubos dos grupos de tratamento e do grupo controle, foi colocado em lâminas de vidro e analisado em microscópio óptico (10x e 40x) para determinar a quantidade de ovos não eclodidos e o estágio evolutivo dos ovos.

B) Ensaio 2- Inibição da migração das larvas (L3)

Para observar a inibição das larvas de terceiro estágio foram adicionados 1ml de solução contendo 500 L3/ml em placas de Petri de 5cm de diâmetro, três placas para cada grupo. Nas placas dos grupos de tratamento foram adicionadas 1ml do

extrato aquoso das sementes de abóbora e de mamão nas concentrações de 10mg/ml e 100mg/ml. Nas placas do grupo controle foram adicionadas 1ml de água destilada. As placas foram incubadas à 25°C por 3 horas. Após a incubação as placas foram analisadas no microscópio óptico (10x) para determinar a quantidade de larvas imóveis. Este ensaio foi baseado na técnica descrita por Rabel *et al.* (1994), modificada.

C) Teste *in vivo*

Este teste foi realizado em uma propriedade localizada no município de Matipó, MG. Foram utilizados 9 bovinos, com idade variando de 6 a 12 meses, naturalmente infectados por nematoides gastrintestinais. Os animais foram mantidos em um piquete e identificados por meio de brincos e colares coloridos. Receberam água e forragem verde *ad libitum* e suplementação mineral, durante todo o período do estudo experimental.

Os animais foram separados em três grupos compostos por 3 bovinos. Sendo dois grupos de tratamento – A (abóbora) e M (mamão) –, onde o grupo A recebeu pó de sementes de abóbora e o grupo M recebeu pó de sementes de mamão na dose de 19g/10kg de peso corporal e um grupo controle que recebeu placebo (fubá) na dose de 19g/10kg de peso corporal. Todos os grupos receberam os tratamentos por três dias consecutivos.

Nos dias zero (dia do primeiro tratamento), 10, 20, 30 foram realizadas coletas de fezes, diretamente da ampola retal, para análise parasitológica através da contagem do número de ovos por grama de fezes (OPG), segundo a metodologia descrita por Gordon e Whitlock (1939). A avaliação da eficácia dos tratamentos sobre a redução do OPG, nos diferentes dias após os tratamentos, foi feita pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ eficácia} = [(\text{Média de OPG inicial} - \text{média de OPG pós-tratamento}) / \text{Média de OPG inicial}] \times 100$$

D) Análise Estatística

Para análise estatística dos testes *in vitro* e *in vivo*, os dados de OPG e média de larvas recuperadas nas coproculturas, foram transformados para $\log(x + 1)$ e

submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de comparação de médias de Tukey de significância de 1% e 5% (AYRES *et al.*, 2003).



RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados mostraram que dentro do período de incubação não houve eclosão dos ovos que permaneceram embrionados (com uma mórula) ou larvados (Figura 1). As mesmas fezes foram utilizadas para obtenção de larvas, sendo constatado que todas pertenciam ao gênero *Oesophagostomum*.

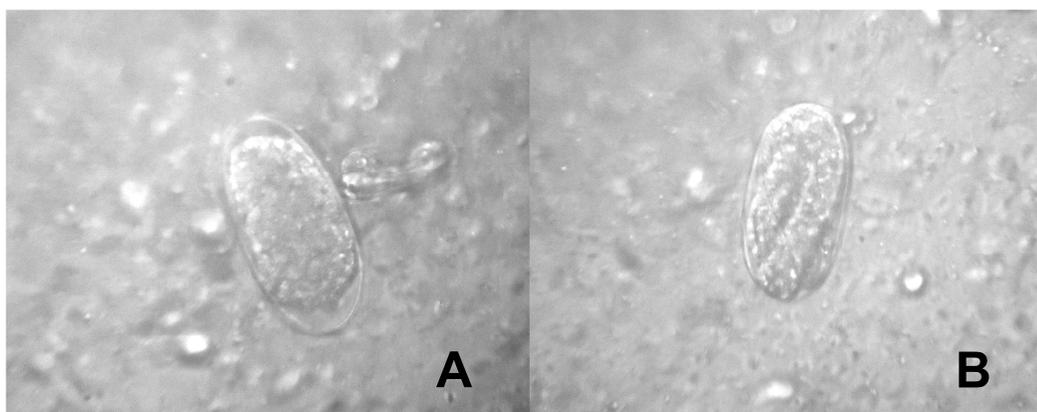


Figura 1: Ovo embrionado (com mórula) (A) e ovo larvado (B) de *Oesophagostomum* sp. de bovinos (40x).

A média de ovos contendo larva nos grupos tratados com extrato aquoso de sementes de abóbora nas concentrações de 100mg/ml e 10mg/ml foi 12 e 84, respectivamente. Nos grupos tratados com extrato aquoso de sementes de mamão nas concentrações de 100mg/ml e 10mg/ml a média de ovos larvados foi 3 e 10, respectivamente. No grupo controle (água destilada) a média de ovos larvados foi 260 (Figura 2).

A média de ovos larvados em todos os grupos tratados foi significativamente menor que no grupo controle ($P < 0,01$), não havendo diferença entre os grupos tratados com extrato aquoso de sementes de abóbora na concentração de 100mg/ml e os grupos tratados com extrato aquoso de sementes de mamão nas duas concentrações (100 e 10mg/ml) ($P > 0,05$) (Figura 2).

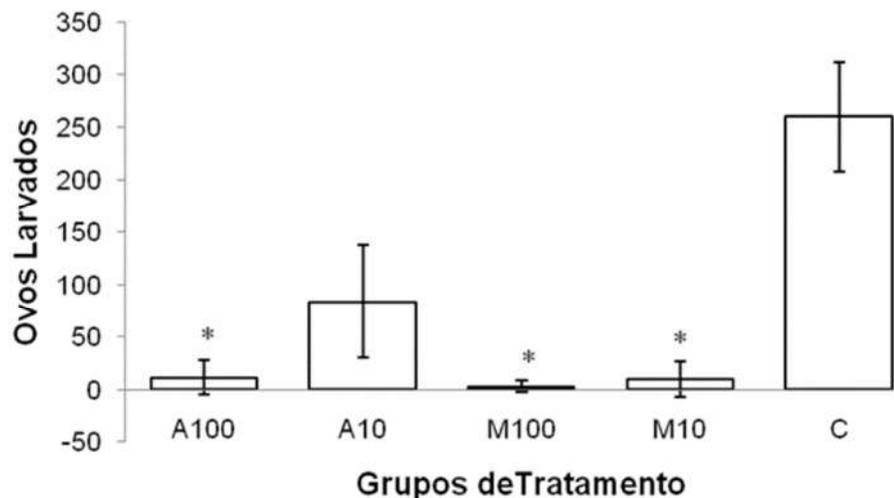


Figura 2:
Média e desvio

padrão (barra) dos ovos larvados de *Oesophagostomum* sp. nos grupos tratados com extrato aquoso de sementes de abóbora nas concentrações de 100mg/ml (A100) e 10mg/ml (A10), extrato aquoso de sementes de mamão nas concentrações 100mg/ml (M100) e 10mg/ml (M10) e no grupo controle (água destilada) (C). Médias marcadas (*) não diferem estatisticamente ($P > 0,05$).

Os grupos tratados com extrato aquoso de sementes de abóbora na concentração 100mg/ml e 10mg/ml apresentaram percentuais de eficácia de 90,51% e 67,56%, respectivamente. Para os grupos tratados com extrato aquoso de sementes de mamão na concentração 100mg/ml e 10mg/ml, as eficácias foram de 98,72% e 96,15%, respectivamente.

Batatinha *et al.* (2004), trabalhando com extrato aquoso de sementes de mamão sobre cultura de fezes de caprinos contendo ovos da superfamília *Strongyloidea*, só conseguiram percentuais de redução acima de 95% no número de larvas nascidas quando utilizaram concentrações iguais ou acima de 290mg/ml do extrato. No presente trabalho observou-se que, quando aplicadas diretamente sobre os ovos, concentrações mais baixas (100mg/ml e 10mg/ml) do extrato de mamão foram igualmente eficazes na inibição do desenvolvimento larval no interior do ovo.

No teste com larvas os resultados mostraram médias de 82,22 e 16,67 larvas imóveis nos grupos tratados com extrato aquoso de sementes de abóbora nas concentrações de 100mg/ml e 10mg/ml, respectivamente. Médias de 67,78 e 33,89 larvas imóveis nos grupos tratados com extrato aquoso de sementes de mamão nas

concentrações de 100mg/ml e 10mg/ml, respectivamente, e média se 5,00 larvas imóveis no grupo controle (água destilada) (Figura 3).

O grupo tratado com extrato aquoso de sementes de abóbora na concentração de 10mg/ml não diferiu do controle ($P>0,05$); já os demais grupos diferiram do grupo controle ($P<0,01$). Entre os tratamentos, não houve diferença ($P>0,05$) entre os grupos tratados com extrato aquoso de sementes de abóbora e de mamão na concentração de 100mg/ml sendo igualmente eficazes (Figura 3).

Este foi o primeiro relato da ação de sementes de abóbora e de mamão sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum* sp. de bovinos.

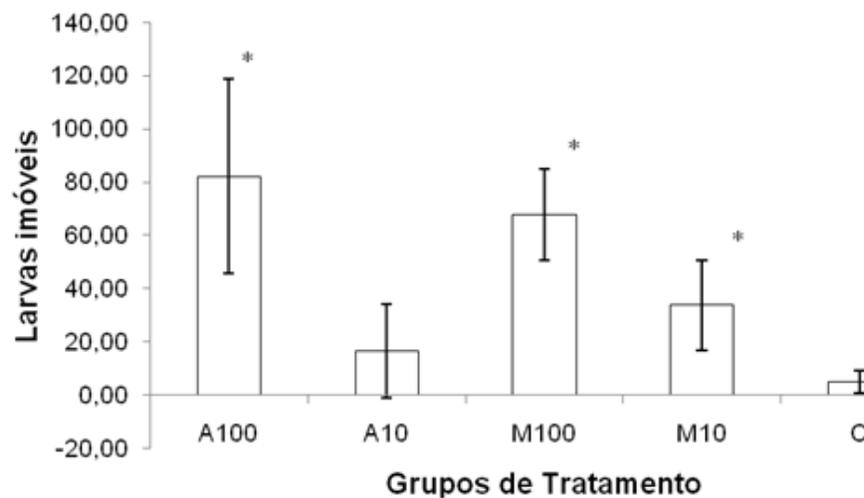


Figura 3: Média e desvio padrão (barra) das larvas imóveis de *Oesophagostomum* sp. nos grupos tratados com extrato aquoso de sementes de abóbora nas concentrações de 100mg/ml (A100) e 10mg/ml (A10), extrato aquoso de sementes de mamão nas concentrações 100mg/ml (M100) e 10mg/ml (M10) e no grupo controle (água destilada) (C). Médias marcadas (*) não diferem estatisticamente ($P < 0,01$).

No teste *in vivo* os animais estavam parasitados com ovos da superfamília *Strongyloidea*. As médias do OPG dos animais dos grupos tratados com sementes de abóbora e de mamão e do grupo controle (fubá) nos dias 0, 10, 20 e 30 após o início do tratamento estão representadas na figura 4. Na dose testada, os resultados mostraram que não houve diferença estatística entre a média de OPG dos animais dos grupos tratados e do controle em nenhum dos dias de observação ($P>0,05$) (Figura 4).

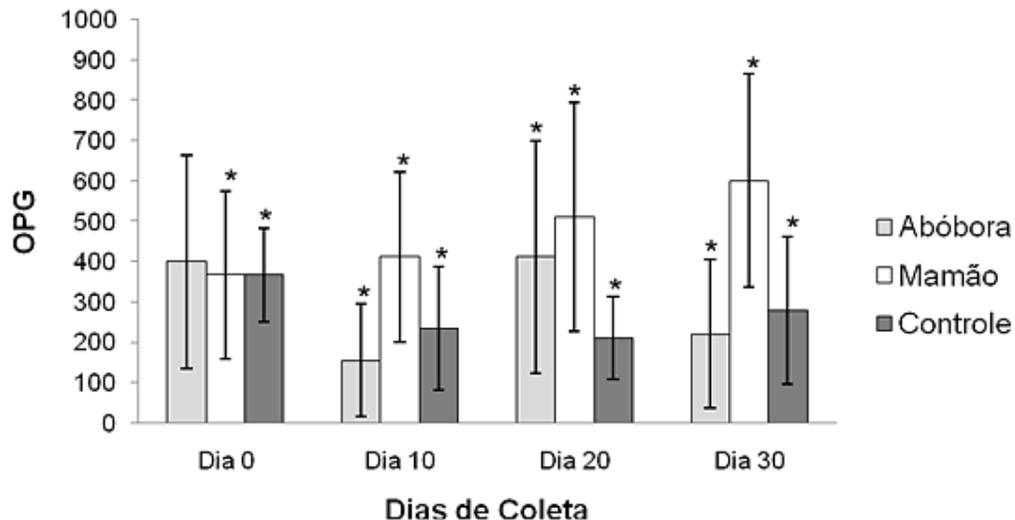


Figura 4: Média e desvio padrão (barra) da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) dos animais dos grupos tratados com pó de sementes de abóbora e de mamão e do grupo controle (fubá) coletados nos intervalos 0 (zero), primeiro dia de tratamento e nos dias 10, 20 e 30 após o início do tratamento. Médias marcadas (*) não diferem estatisticamente ($P < 0,01$).

Almeida *et al.* (2007), trabalhando com sementes de abóbora (*Curcubita pepo* L.) na mesma dose (19g/10kg de peso vivo) em caprinos, obtiveram uma redução média de 63% dos helmintos. Resultados não observados no presente trabalho, indicando que, para bovinos, a dose utilizada é insuficiente. Necessitando de mais estudos para determinar a melhor dose para bovinos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização das sementes de abóbora na concentração de 100mg/ml e das sementes de mamão nas concentrações testadas (10mg/ml e 100mg/ml) foram eficazes no controle das larvas infectantes (L3) de *Oesophagostomum* sp. de bovinos.

Os extratos aquosos de abóbora e mamão, nas concentrações testadas, foram capazes de reduzir o desenvolvimento embrionário nos ovos de *Oesophagostomum* sp. de bovinos.

Nos testes *in vivo* a dose testada foi incapaz de controlar os helmintos adultos no trato gastrointestinal de bovinos. Necessitando de mais estudos que possam determinar a dose ótima para utilização em bovinos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, W.V.F.; SILVA, M.L.C.R.; FARIAS, E.B.; ATHAYDE, A.C.R.; SILVA, W.W. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semiárido paraibano naturalmente infectados por nematoides gastrintestinais. **Caatinga**, v.20, n.3, p.1-7, 2007.

ARAÚJO, J.V.; SAMPAIO, W.M. Effects of temperature, mineral salt and passage through gastrointestinal tract of calves on alginate formulation of *Arthrobotrys robusta*-a nematode – trapping fungus. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p.55-60, 2000.

ATHANASIADOU, S.; GITHIORI J.; KYRIAZAKIS, I. Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. **Animal**. v.1, n.9, p.1392–1400, 2007.

AYRES, M., AYRES, J.R.M., AYRES, D.L. & SANTOS, A.S. **Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas**. Brasília, pág.290, 2003.

BATATINHA, M.J.M. *et al.* Efeitos in vitro dos extratos de folhas de *Musa cavendishii* Linn. e de sementes de *Carica papaya* Linn. sobre culturas de larvas de nematoides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.07, n.1, p.11-15, 2004.

BRASIL. **Ministério da Agricultura**, 2012. Bovinos. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>. Acesso em: 08.mar.2014.

CAILI, F.; HUAN, S.; QUANHONG, L. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. **Plant Foods for Human & Nutrition**, v. 61, p. 73–80, 2006.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F. **Avaliação da atividade anti-helmíntica dos óleos essenciais de Lippia sidoides e Croton zehntneri sobre nematoides gastrintestinais de ovinos**. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará. 2006.

CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, supl.1, p.156-160, 2004.

FUJIMOTO, R.Y.; COSTA, H.C.; RAMOS, F.M. Controle alternativo de helmintos de *Astyanax cf. zonatus* utilizando fitoterapia com sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) e mamão (*Carica papaya*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.32, n.1, p.5-10, 2012.

FURTADO, S.K. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no Estado do Paraná: testes in vitro e in vivo.** 127f. Tese (Doutorado em Ciências) - Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná. 2006.



FURTADO, S.K. *et al.* Efeito de *Carica papaya L.* (caricaceae) e *Musa paradisiaca linn.* (musaceae) sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, p.191-197, 2005.

GITHIORI, J.B.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S.M. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminthes in livestock with emphasis on small ruminants. **Veterinary Parasitology**, v.139, n.4, p.308-320, 2006.

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Scientific and Industrial Research.**, v.12, n.1, p.50-52, 1939.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 2010. Produção pecuária municipal 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/default.shtm>. Acesso em: 17.mar.2014.

MAHMOUDO, O. M.; KOBLOVA, I. A.; STEWARD, J. S.; PANKAVICH, J. B. The effect of *Calotropis procera* on small ruminants. II. **Effects of administration of the latex to sheep and goats.** **Journal of Comparative Pathology**, v. 89, p. 251-264, 2002.

NAGESH, M.; CHANDRAVADANA, M.V.; SREEJA, V.G.; BABU, C.S.B. Benzyl isothiocyanate from *Carica papaya* seeds – a potential nematicide against *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterrânea**, v.30, n.2, p.15-157, 2002.

NOGUEIRA, D.M.; MOURA, E.J.; NASCIMENTO, T.V.C. Avaliação de extratos de plantas medicinais no controle de nematódeos gastrintestinais de cordeiros criados em sistema de produção de frutas. **Anais Zootec 2009**, Associação Brasileira de Zootecnia. Águas de Lindóia/SP. 2009.

PANDEY, R. Studies on phytonematotoxic properties in the extract of some medicinal and aromatic plants. **International Hematology Network Newsletter**, v.7, p.19-20, 1990.

RABEL, B., MCGREGOR, R., DOUCH, P.G.C., 1994. Improved bioassay for estimation of inhibitory effects of ovine gastrointestinal mucus and anthelmintics on nematode larval migration. **International Journal for Parasitology**, v.24, n.1, p.671–676, 1994.

SOUSA, A.R.M. **Atividade *in vitro* do extrato etanólico da semente de jerimum (*Cucurbita pepo* L.) e do suco de alho (*Allium sativum* L.) em nematoides gastrintestinais de caprinos.** Dissertação, mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Patos-PB, 80 p., 2008.



TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, Richard. **Parasitologia veterinária.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

COMPARAÇÃO ENTRE AS TAXAS DE PRENHÊS DE RECEPTORAS INOVULADAS NO D2 COM SUPLEMENTAÇÃO DE PROGESTERONA E RECEPTORAS INOVULADAS NO D5 SEM PROGESTERONA.



Acadêmicos: Alexandre Werner Breder

Pedro Henrique Rodrigues Werner

Orientador: João Luis do Espírito Santo

RESUMO

Este trabalho foi conduzido com a finalidade de avaliar a utilização de progesterona de longa ação (P4LA) no dia da ovulação das receptoras para serem inovuladas no segundo dia após a ovulação (D2) com o intuito de otimizar a sua utilização em programas de transferência de embriões equinos (TEE). Cento e sete (107) ciclos estrais de éguas receptoras de embriões foram avaliados por palpação retal e ultrassonografia, sendo observadas as características dos órgãos genitais durante o estro até o dia da ovulação (D0), e no diestro, no momento da inovulação embrionária. Todas as receptoras mencionadas apresentaram boas condições dos órgãos genitais, sendo classificadas como aptas para o programa de TEE. Cento e sete (107) embriões foram recuperados, resultando em 78 prenhez (72,47 %). As receptoras foram divididas em dois tratamentos: 38 inovulações no D2, com administração de 1500 mg P4LA no dia da ovulação (D0), 69 inovulações do quarto (D4) ao oitavo (D8) dia após ovulação sem tratamento prévio de progestágeno, sendo que as taxas de prenhez foram de 71% e 74%, respectivamente. A taxa de prenhez do grupo de éguas inovuladas no D2 com administração de 1500 mg P4LA no dia da ovulação (D0) e o grupo de receptoras inovuladas do quarto dia após ovulação (D4) ao oitavo dia após a ovulação (D8) dia após ovulação, sem tratamento prévio de progestágeno, não apresentou diferença estatística; Tais procedimentos contribuem na redução de custos da técnica de transferência de embriões em equinos, por meio da redução da relação receptora/doadora.

PALAVRAS-CHAVE: equinos, progesterona de longa ação, receptoras, transferência de embriões

INTRODUÇÃO

Na época do descobrimento do Brasil o cavalo tinha um valor estratégico muito grande, mas não tinha um bom valor monetário (LIMA, 2007). Com o passar do tempo as seleções dos animais foram aprimoradas e os equídeos das mais diversas raças foram importados para o nosso país. Estes animais deixaram de ser utilizados apenas para os serviços das fazendas e passaram a ser empregado em diversas competições de marcha, em provas funcionais, enduros, cavalgadas planilhadas, terapias, além de serem aplicados para o lazer, como nos passeios entre outros (MAPA, 2011).

Atualmente, com o grande investimento na criação de animais de competição e com o aumento nas vendas daqueles que possuem alto valor genético e

competitivo, é inquestionável o crescimento do mercado de criação de equídeos no mundo (MARIZ, 2008).

O Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina e o terceiro mundial. Somados aos muares (mulas) e asininos (asnos), são 8 milhões de cabeças, movimentando R\$ 7,3 bilhões, somente com a produção (MAPA 2010). Contudo, a criação de cavalos continua em amplo crescimento a cada ano (VIANNA, 2000). O rebanho envolve mais de 30 segmentos, distribuídos entre insumos, criação e destinação final e compõe a base do chamado Complexo do Agronegócio Cavalo, responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (MAPA 2010).

No entanto, a espécie equina foi considerada por muitos anos como a de menor fertilidade, devido à forma de seleção e manejo reprodutivo destes animais (GINTHER, 1992). Dessa forma, a transferência de embriões (TE) começou a ser utilizada para acelerar o ganho genético do plantel e tornou-se a melhor ferramenta para aperfeiçoar a qualidade reprodutiva dos animais (ARRUDA *et al.*, 2001), pois a seleção é muito mais rápida que no método tradicional, que gera apenas um produto por ano (KUMAR *et al.*, 2008).

Tratamentos à base de progesterona de longa duração (PLA) têm sido utilizados amplamente para aumentar a janela para as TE's, otimizando assim a sincronização entre doadoras e receptoras. Com isso, é possível evitar perda de materiais genéticos, mão de obra e deslocamento, possibilitando a redução de custos de produção de animais de alto valor genético (CAIADO *et al.*, 2006).

O objetivo deste trabalho é descrever a eficiência da utilização de progestágenos no dia da ovulação em éguas receptoras em criatórios da região da Zona da Mata e região do Vale do Rio Doce em Minas Gerais. Com o aumento da janela de sincronização de doadoras e receptoras é possível obter melhores taxas de prenhez e conseqüentemente mais animais com possibilidade de grande desempenho produtivo.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

IMPORTÂNCIA DAS TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO

A primeira TE em equinos foi realizada em 1972, no Japão, por Oguri e Tsutsumi. No Brasil, a técnica foi iniciada em 1986, no estado de São Paulo, com animais da raça Mangalarga (FLEURY, 1998).

A TE tem sido muito aplicada na espécie equina para o aumento do número de descendentes/ano/matriz. Além do Brasil, a Argentina e os Estados Unidos são os países que mais utilizam a técnica no mundo. Segundo o Comitê Estatístico da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões, em 2010 o Brasil foi responsável por 43% das TEs no mundo, seguido por Argentina com 29% e Estados Unidos com 19%, ou seja, os três países juntos foram responsáveis por 90% do total de TE em equinos realizadas em todo planeta naquele ano. Estes países são seguidos pela Austrália, que contribuiu com 8,5% do total de embriões transferidos em 2010 (IETS 2010). Veja Tabela 1.

TABELA 1 - ATIVIDADE T.E. EQUINA EM 2010

PAÍSES	LAVADOS EMBRIÕES FRESCOS	EMBRIÕES CONGELADOS	EMBRIÕES TRANSFERIDOS	PORCENTAGEM	
BRASIL	15.200	12.400	22	12.422	43,10%
ARGENTINA	12.655	8.226	0	8.226	28,54%
EUA	9.933	4.966	495	5.461	18,95%
AUSTRÁLIA	3.300	1.230	1.230	2.460	8,53%
EUROPA	385	123	0	123	0,43%
ÁFRICA DO SUL	127	95	0	95	0,33%
CANADÁ	42	32	0	32	0,11%
URUGUAI	10	5	0	5	0,02%

FONTE: ADAPTADA DE STROUD 2011

Para o sucesso da TE equina é muito importante a seleção de doadoras e, principalmente, das receptoras que constituem o principal gargalo da técnica. Para as doadoras deve-se levar em consideração seu histórico reprodutivo, fertilidade, as características referentes à raça, a qualidade de seus progenitores, a qualidade dos produtos gerados e o número de gestações pretendidas (SQUIRES *et al.*, 1999). Já para as seleções das éguas receptoras, que reconhecerão o embrião, deve ser levado em consideração o peso, a idade, que deve ser entre 3 a 10 anos, boa índole, desenvolvimento mamário de boa qualidade e ciclos estrais normais (VANDERWALL & WOODS, 2007). As receptoras devem ser examinadas a cada 2 dias para controle de folículo e ovulação (VANDERWALL & WOODS, 2007). O mais recomendado é que, para cada doadora, pelo menos duas receptoras estejam sincronizadas com ela (MCKINNON e SQUIRES, 2007), mas o ideal são 3 receptoras por doadora, para que possamos escolher aquela em melhores condições no momento da inovulação (CARNEVALE *et al.*, 2007).

As éguas são poliéstricas estacionais, com ciclos reprodutivos na época de primavera e verão. É predominantemente monovulatórias (apenas um folículo dominante por cada onda folicular), embora possam ocorrer múltiplas ovulações. Essas taxas são influenciadas pela raça, idade, estado reprodutivo, estado nutricional, estação do ano etc. A raça Puro Sangue de Corrida (PSC) é a que possui maior taxa de múltiplas ovulações (GINTHER, 1992).



Durante o inverno a ausência de ciclos ovulatórios diminui a máxima utilização das doadoras. A utilização de programas de luz artificial, aliado a uma nutrição balanceada é considerada uma ótima alternativa para evitar esta “parada” fisiológica, fazendo com que doadoras e receptoras sejam usadas o ano todo, otimizando a utilização da TE (ALBRECHT DE DAVID, 2011).

As éguas possuem duas peculiaridades que limitam a TE. A primeira é que ainda não se conseguiu uma técnica eficiente que estimule a superovulação na espécie. A segunda é a variação do ciclo estral da égua, que nem o início e nem mesmo o final do estro são uma indicação confiável do momento da ovulação (LEY, 2006).

Sem dúvida, o fator que mais interfere na TE equina é a sincronização entre doadoras e receptoras de embriões (SQUIRES, 2003), que pode ser complicada devido ao longo comportamento estral. O comportamento até a ovulação é muito variado entre os indivíduos (CARD, 2009).

A hormonioterapia é aplicada visando diminuir a variação do ciclo estral entre doadoras e receptoras, aumentando o número de ciclos por ano. Além disso, favorece o desenvolvimento embrionário em um ambiente uterino mais propício e reduz o intervalo entre ovulações, o que promove o aumento do número de embriões coletados durante o ano, possibilitando uma melhor eficiência reprodutiva com a utilização da TE (FARIA; GRADELA, 2010)

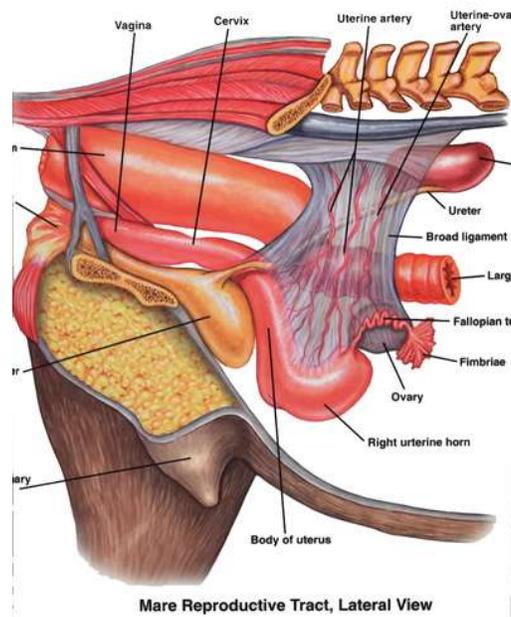
Alguns hormônios utilizados em programas de TE, preconizam o uso da progesterona de longa ação (P4 LA) ou altrenogest, que têm demonstrado resultados satisfatórios (CAIADO *et al.*, 2006). O tratamento com P4 LA em receptoras equinas no período de D0 (dia da ovulação) a D5 possibilitou a inovulação destas receptoras no D2 e a obtenção de taxa de prenhez estatisticamente similar à de éguas consideradas excelentes e boas para inovulação no D5 (CAIADO *et al.*, 2006).

Hughes *et al.* (1980) estudaram o efeito da aplicação diária de progesterona LA via intramuscular em éguas ovariectomizadas e demonstraram que as doses de 50 e 100 mg/dia não foram suficientes para atingir o nível plasmático considerado por Sharp (2000) como satisfatório para manutenção da gestação (4ng/ml). Esse nível só foi atingido com doses de 200 mg/dia, confirmando que níveis séricos de progesterona inferiores a 1 ng/ml caracterizam o período do estro. Bergfelt & Ginther (1996) verificaram, em éguas e pôneis, que a concentração de progesterona (ng/ml) foi próxima de zero no dia da ovulação e atingiu aproximadamente 3,0 no D2 e 11,0 no D7 em ambos os grupos de fêmeas. No D4, a concentração de progesterona foi menor nas éguas (em torno de 7,0 ng/ml) que nos pôneis (em torno de 9,0 ng/ml). Souza *et al.* (1999), trabalhando com potras da raça Brasileiro de Hipismo, encontraram concentrações médias de progesterona plasmática de 5,6 ng/ml no 4º dia pós-ovulação. Essas concentrações permaneceram elevadas até o 14º dia, quando retornaram a valores basais.

ANATOMIA

TRATO REPRODUTIVO DA FÊMEA

Os órgãos genitais das éguas: ovários, tubas uterinas, útero, vagina, vestíbulo da vagina e vulva.



OVÁRIOS

Os ovários são as gônadas femininas, órgãos pares e estão situados na cavidade abdominal, em geral relacionados com a parede dorsolateral do abdome (DYCE *et al*, 2004).

Os ovários da égua: A égua é que representa o maior ovário de todas as fêmeas domésticas e exibem um formato de feijão. Encontram-se a cerca de 50-55 cm de distância da rima vulvar (ao nível aproximado da segunda vértebra lombar). Encontram-se suspensos por um amplo ligamento mesovárico. No mesovário encontram-se os vasos e nervos destinados ao ovário. A superfície dos ovários da égua é lisa, de contornos arredondados e coberta pelo peritônio. A margem livre, no entanto, apresenta uma grande depressão, a fossa ovárica, ponto único de ovulação nesta espécie. Bem junto à fossa ovárica acha-se o infundíbulo da tuba uterina (GROSSMAN *et al.*, 1986).

TUBAS UTERINAS

São um par de finos tubos, de natureza músculo membranosa, responsáveis por captar os ovócitos na superfície do ovário, por ocasião da ovulação, conduzindo-os ao útero. Também é nas tubas uterinas onde ocorre a fertilização do(s) ovócito(s) (GROSSMAN *et al.*, 1986).

ÚTERO

O útero é o órgão que, controlado por hormônios, é capaz de receber o embrião, permitir a sua implantação, viabilizar o desenvolvimento de gestação, e promover a sua expulsão por ocasião do parto (DYCE *et al.*, 2004).

O útero da égua: O útero da égua possui um corpo bem desenvolvido e uma ampla cavidade uterina. Nesta espécie, a extremidade cranial do corpo do útero forma o fundo do útero. Os cornos uterinos são largos e com extremidades, que se interrompem bruscamente, voltadas dorsocranialmente. A cérvix uterina da égua possui apenas pregas longitudinais (DYCE *et al.*, 2004).

VAGINA

Trata-se de um órgão tubular, comprimido lateralmente, ao ponto de suas paredes laterais estabelecerem contato. Representa o órgão copulador da fêmea,

sua extremidade cranial está em contato com a porção vaginal da cérvix e sua extremidade caudal é contínua, por intermédio do hímen, com o vestíbulo da vagina. O órgão é notavelmente dilatável, tanto em comprimento como em circunferência (DYCE *et al.*, 2004). A mucosa vaginal apresenta-se enrugada longitudinalmente, embora as rugas desapareçam prontamente à distensão, (DYCE *et al.*, 2004); é necessária por ser este órgão um importante segmento do canal do parto. Quanto à sua localização, a vagina situa-se totalmente na cavidade pélvica, em posição mediana, relacionando-se dorsalmente com o reto e ventralmente com a bexiga e a uretra. A extremidade cranial da luz da vagina é parcialmente invadida pela porção vaginal da cérvix. A extremidade caudal da vagina é limitada por uma prega anular, incompleta e bastante discreta na maioria dos mamíferos domésticos, o hímen, que forma o contorno do óstio vaginal. Através do óstio vaginal, a vagina continua-se com o vestíbulo da vagina (DYCE *et al.*, 2004).

VESTIBULO DA VAGINA

O vestíbulo da vagina é o segmento compreendido entre o óstio vaginal e a rima vulvar. O formato de sua luz é semelhante ao da vagina, pois se trata de uma continuação daquela. Porém sua túnica muscular, lisa, é envolta por um feixe de fibras musculares estriadas (m. constritor do vestíbulo) (GROSSMAN *et al.*, 1986).

VULVA

A vulva e o clitóris formam a parte externa do genital feminino. A vulva é formada por dois lábios, direito e esquerdo, cuja justaposição determina o aparecimento de uma fenda, a rima vulvar, que é a abertura externa do trato genital feminino. Os ângulos formados pela fusão dos lábios vulvares, nas extremidades da rima, são as chamadas comissuras labiais vulvares, dorsal e ventral (GROSSMAN *et al.*, 1986).

O clitóris é um órgão erétil, homólogo ao pênis, situado na porção mais caudal do assoalho do vestíbulo, bem próximo à comissura labial vulvar ventral. Acha-se no interior de uma depressão, bastante ampla na égua, denominada fossa do clitóris (GROSSMAN *et al.*, 1986).

SINCRONIZAÇÃO ENTRE DOADORAS E RECEPTORAS

Entre as fêmeas dos animais domésticos, as da espécie equina apresentam características específicas como uma longa fase folicular, que dificultam a sincronização do estro e da ovulação (CAMARGO, 2008).

Os principais fatores determinantes da taxa de prenhez em receptoras equinas são: sincronia do útero da receptora com a idade do embrião, qualidade do embrião e idade da égua receptora (LOPES, 2004).

Sob a ação da progesterona ocorrem significativas mudanças no ambiente uterino, sendo que, o útero, não estando em sincronia com o embrião, pode não oferecer as condições ideais para a sua sobrevivência (ALONSO, 2007).

Segundo Lopes (2004) (citado por OGURI TSUTSUMI, 1980) obtiveram 63% de prenhez após transferência não cirúrgica para receptoras que ovularam 48h depois da doadora, contra 0% em receptoras que ovularam 48h antes da doadora. Dessa forma, preconizou-se por muitos anos a transferência dos embriões para receptoras +1 a -2, ou seja, as que ovularam um dia antes até dois dias depois da doadora (LOPES, 2004).

Segundo Stout (2006) (citado por COSTA, 2010) a taxa de gestação é similar para receptoras que ovularam um dia antes a dois dias depois da doadora, sendo que a maioria dos profissionais dão preferência a receptoras que ovularam depois da doadora. Segundo Alonso (2007) (citado por VOGELSANG *et al.*, 1985), obteve um resultado de 60% de prenhez quando utilizaram receptoras que ovularam 3 dias depois da doadora, mas obtiveram resultados negativos quando utilizaram éguas que ovularam 4 a 6 dias depois da doadora. As receptoras que ovularam 1 dia antes a 3 dias após a doadora obtiveram maior índice de gestação (CAMARGO, 2008).

Alonso (2007), relatou que o número de dias pós ovulação da receptora, associado a uma criteriosa avaliação antes da inovulação, é mais importante no que diz respeito à taxa de prenhez pós transferência, que sincroniza doadora - receptora.

Alvarenga *et al.* (2009) preconizam o uso de receptoras que estejam entre o D4 e D8 após ovulação. Carnevale *et al.* (2000) (citado por CASTRO *et al.*, 2004) observaram menor taxa de morte embrionária quando utilizaram receptoras 5 e 6 dias pós ovulação. Alonso (2007) e Fleury *et al.* (2006) não encontraram diferença nas taxas de prenhez em éguas receptoras entre o D3 e D8 do ciclo, mostrando a possibilidade de uma maior janela de utilização da receptora, o que facilita a sincronização.

TABELA 2. Taxa de prenhez no 15º dia do embrião em éguas receptoras nos dias 3 a 8 após ovulação.

DIA DO CICLO	N	TAXA DE PRENHÊZ (%)
3	83	75,90
4	198	71,72
5	228	71,49
6	173	69,36
7	147	76,87
8	76	68,42

ALONSO, 2007

Caiado *et al.*, (2007) verificaram que o tratamento com progesterona iniciado no dia da ovulação da receptora permitiu seu uso já no segundo dia pós ovulação, tendo sido obtidas taxas de prenhez próximas a 70%, quando utilizada a progesterona, e de 30% quando não utilizada a suplementação.

Fleury *et al.* (2006) observaram ser possível a utilização de receptoras no 3º dia pós ovulação, desde que estas apresentem bom tônus uterino na avaliação ginecológica.

Outra possibilidade é a utilização de receptoras com ciclo artificial. Esses animais são utilizados aplicando-se estrógeno e progesterona para mimetizar um ciclo natural em éguas em período de transição ou em anestro (ALONSO, 2007).

Rocha Filho *et al.*, (2004), utilizando (10mg/dia) de cipionato de estradiol durante dois dias e no dia seguinte (1500mg) de progesterona LA a cada 7 (sete) dias, sendo as inovulações realizadas 5 a 8 dias após o início do tratamento, obtiveram taxa de prenhez aos 12 dias pós-ovulação da doadora de 76,6%.

METODOLOGIA

Os dados levantados foram coletados na região da Zona da Mata Mineira e Região do Vale do Rio Doce no estado de Minas Gerais. Foram acompanhadas 107 éguas da raça Mangalarga Marchador e Quarto de Milha, com idade variando de 4 a 12 anos, clinicamente sadias, durante a estação reprodutiva de 2013/2014. Todas as éguas encontravam-se ciclando, com presença de corpo lúteo funcional.

Os animais foram tratados em regime de campo com pastagem de gramíneas, sal mineral *ad libidum*, e suplementadas com 1 quilo de ração comercial para equinos. A condição corporal das éguas no início do levantamento de dados

girava em torno de 2 e 4 e durante todo experimento não foi notada nenhuma queda da condição corporal e nem das boas condições de saúde.

A atividade ovariana das éguas foi avaliada a cada dois dias através da palpação retal e ultrassonografia e os dados foram anotados em fichas individuais de controle.

No momento da transferência, as receptoras foram examinadas por meio de palpação retal e ultrassonografia, observando-se o tônus uterino e cérvix fechada, a morfologia dos corpos lúteos e a presença de edema, cistos, fluidos ou ar intra uterinos (CARNEVALE *et al.*, 2000) – e classificadas como excelentes, boas e inaceitáveis.

Somente as receptoras excelentes ou boas foram inovuladas neste experimento. A técnica utilizada foi a transcervical e não-cirúrgica com o auxílio da pipeta de inseminação artificial (Provar®) (RIERA *et al.*, 1993, com modificações), com a deposição do embrião no corpo ou corno uterino, de acordo com a facilidade da inovulação. Para o diagnóstico de gestação, as receptoras foram examinadas por palpação retal e ultrassonografia transretal aos 14 dias da ovulação de sua respectiva doadora e, quando o resultado foi positivo, o diagnóstico foi confirmado aos 30 e 60 dias de gestação.

As receptoras foram divididas em dois grupos. No primeiro grupo foram colocadas as 38 receptoras com aplicação de progesterona no D0 (dia da ovulação) para serem inovuladas no D2. O segundo grupo foi ocupado pelas 69 receptoras inovuladas no D4 e no D5 sem a utilização de P4 LA.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na avaliação dos animais selecionados para o grupo D2 com a utilização de P4 LA 38 éguas selecionadas entre excelentes e boas para inovulação, sendo que 71,52% destes animais tiveram prenhez confirmada com 60 dias após a T.E.

Nos animais selecionados no grupo D4 e D5, 69 receptoras escolhidas foram classificadas entre excelentes e boas para inovulação, sendo que 73,03% tiveram prenhez confirmada com 60 dias de gestação.

A partir dos 60 dias nenhuma égua teve aborto espontâneo nem mesmo por outros motivos como doença, trauma ou estresse por exemplo.

Neste trabalho não foi utilizado o grupo controle D2 sem a utilização de progestágenos por ser um levantamento de dados realizado em criatórios que visam lucro com a venda de produtos vindos da T.E. realizados durante o levantamento de dados.

Os resultados obtidos nos grupos pesquisados foram muito próximos e demonstra que a aplicação de P4 LA no D0 é eficiente e de extrema importância para aumentar a janela de transferência de embriões e diminui o principal gargalo da técnica que é a falta de receptoras ótimas ou boas para inovulação no dia da T.E.

TABELA 3 – Resultados coletados em 2013 e 2014.

ESTAÇÃO 2013/2014

PROPRIEDADE EMBRIÕES INOVULADOS NA RECEPTORA D2 % PRENHÊZ - 15 DIAS % PRENHÊZ 60 DIAS

A	15	11	10
B	6	4	4
C	9	7	7
D	8	6	6

PROPRIEDADE EMBRIÕES INOVULADOS NA RECEPTORA D5 % PRENHÊZ - 15 DIAS % PRENHÊZ 60 DIAS

A	20	15	15
B	9	7	6
C	18	15	14
D	22	17	16

TABELA 4

COMPARAÇÃO DE PREENHÊZ NO D2 COM P4 E NO D5 SEM P4

GRUPO	Nº DE INOVULAÇÕES	GESTANTES	NÃO GESTANTES	TAXA DE PREENHÊZ
D2 COM P4	38	27	11	71,05%
D5 SEM P4	69	51	18	73,90%

TABELA 5 - Comparação dos trabalhos.

COMPARAÇÃO ENTRE ESTE TRABALHO E OUTROS PUBLICADOS ANTERIORMENTE

PESQUISAS	GRUPOS	INOVULAÇÕES	GESTANTES	NÃO GESTANTES	TAXA DE PREENHÊZ
ESTE TRABALHO	D2 COM P4	38	27	11	71,05%
	D5 SEM P4	69	51	18	73,90%
RODRIGUES 2012	D2 COM P4	55	39	16	71%
	D5 SEM P4	91	68	23	75%
CAIADO 2007	D2 COM P4	16	6	10	37,50%
	D5 SEM P4	55	42	13	76,36%

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento com P4 LA em receptoras D0 (dia da ovulação) mostrou ser eficiente, pois, receptoras D2 tiveram resultados muito próximos das éguas utilizadas no D5 sem a utilização de progestágenos aumentando a janela de transferência de embriões evitando perdas de embriões por falta de receptoras aptas a receberem o mesmo. E certamente com o avanço das pesquisas em reprodução equina, a T.E. tem se destacado e mostrado grande avanço comercial em todo país, tornando assim a relação custo benefício cada vez mais atraente para o criador, pois poderá reduzir a quantidade de receptoras em relação ao número de coletas de embriões, reduzindo assim custos com nutrição, manejo, mão de obra e até mesmo de áreas de pastagens levando a uma grande economia para os proprietários dos criatórios.

REFERÊNCIAS

ALVARENGA M. A., CAMARGO M. T. & LANDIM-ALVARENGA F. C., Superovulation in mares: limitations and perspectives. **Pferdeheilkunde**. 2008

ARRUDA R. P., VISINTIN J. A., FLEURY J. J., GARCIA A. R., MADUREIRA E. H., CELEGHINI E. C. C. & NEVES NETO J. R.. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultrassom e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embrião equinos., **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 2001

ALONSO M. A.; FLEURY P. D. C.; ALVARENGA M. A.; Utilização de éguas receptoras de embrião três dias (D3) após a ovulação, 2007.

BERGEFELT D. R., ESTRIUS S., In: Samper J.C. (Ed) Equine breeding management and artificial insemination. Saunders Comp., **Pennsylvania**. p.229-246, 1999.

BORTOT D. C.; Aspecto da reprodução equina: inseminação artificial e transferência de embrião. **REVISTA CIENTIFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**. N.21, 2013.

CARNEVALE, E.M.; RAMIRES, R.J.; SQUIRES, E.L. et al. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p.965-979, 2000.

CAIADO J.R.C.; FONCECA F.A.; SILVA J.F.S.; FONTES R.S. Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.2, p.360-368, 2007.

COSTA, M. D. Melhoramento genético de equídeos. **SIMPÓSIO DE EQUIDOCULTURA**, Viçosa: UFV, n.2, p. 133-155. 2009.

DAVIES MOREL M.C.G. *Equine Reproductive Physiology, Breeding and Stud Management*. **CAB International**, 2edição, 2003.

DYCE, M. O. et AL; Tratado de anatomia veterinária. **ELSEVIER**, 2004

EVANGELISTA R. M.; Transferência de embriões em equinos e a importância da égua receptora. **UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**. 2012.

FLEURY P. D. C., ALONSO M. A., SOUSA F. A. C., ANDRADE A. F. C. & ARRUDA R. P.. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões equinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** 2007.

FLEURY J. J. & ALVARENGA M. A., Effects collection day on embryo recovery and pregnancy rates in nonsurgical equine embryo transfer program. **Theriogenology** 51:261. 1999.

FREITAS B. W.; Parâmetros fisiológicos e seminais de garanhões de raça mangalarga marchador na região da zona da mata mineira no decorrer das estações climáticas. **Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de Magister Scientiae.** 2010.

GINTHER O. J.. Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects. **2th ed. Equiservices Publishing, Cross Plains.** 642p. 1992.

GROSSMAN, J. D.; SISSON, S.; GETTY, R.; Anatomia dos animais domésticos. **COPYRIGHT.** V.1, C. 20, p.507-514, 1986.

HUGHES, J.P.; STABENFELT, G.H.; KENNEDY, P.C. The estrous cycle and selected functional and pathologic ovarian abnormalities in the mare. **The Veterinary clinics of North America** (Large Animal Practice), v.2, n.2, p.225-239, 1980.

LIMA R. A. S.; SHIROTA R.; BARROS G. S. C.; Estudo do complexo do agronegócio cavalo. **CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA.APLICADA.** 2006.

LIRA R.A.; PEIXOTO G.C.X.; SILVA A.R. Transferência de embrião em equinos: revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.3, n.4, p.132-140, 2009.

LEURY, J. J. O dia da colheita na taxa de recuperação embrionária em equinos em uma central de transferência de embriões comercial. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.26, n.1, p.268, 1998^a

MARIZ T. M. A., ANJOS A. G., FLOR J. M., FLOR L. M. A. M., LIMA C. B., GIVISIEZ P. E. N. & AZEVEDO P. S., Influências do clima sobre a atividade reprodutiva de éguas da Raça Mangalarga Machador no Estado de Sergipe. **Acta Veterinaria Brasilica.** 2008.

OGURI N. & TSUTSUMI Y., Non-surgical transfer of equine embryos. **Arch. Androl.** 1980.

RODRIGUES T. G.; CAIADO J. R. C.; FAGUNDES B.; SILVA J. F. S.; Uso de progesterona de longa ação e inovulação de éguas no segundo dia após a ovulação. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v.3, n.1, 2012.

RIERA F. L. & MCDONOUGH J., Commercial embryo transfer in polo ponies in Argentina. **Equine Vet. J.** 1993.

ROCHA FILHO A. N., PESSÔA M. A., GIOSO M. M. & ALVARENGA M. A., Transfer embryos into anovulatory recipients supplement with short or long acting progesterone. **Animal Reprod.** 2004.

SQUIRES E. L., CARNEVALE E. M., MCCUE P. M. & BRUEMMER J. E., Embryo technologies in the horse. **Theriogenology**, 2003 .

SQUIRES E. L., MCCUE P. M. & VANDERWALL D. K., The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**. 1999.

VIANNA B. C. 2000. Inseminação artificial em éguas com sêmen congelado, "in natura" e diluído. Dissertação de mestrado, **Universidade Federal do Paraná**, PR, 82p. 2000.

VOGELSANG S. G., SORENSEN A. M., POTTER G. D., BURNS S. J. & Kraemer D.C., Fertility of donor mares following nonsurgical collection of embryos. **J. Reprod. Fertil.** 1979.

VANDERWALL D. K. & WOODS G. L., Embryo transfer and newer assisted reproductive techniques for horses, p 211-219. In: Youngquist R.S. & Threlfall W.R. (Eds) **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. Saunders, Missouri. 2007.

KUMAR D., JHAMB D., KUMAR N. & BANDIAL D. Foals Born through fresh embryo transfer in India. **Proceedings 10th International Congress of World Equine Veterinary Association, Moscow, Russia**. p.567-568. 2008.

COMPORTAMENTO ANATÔMICO DO MÚSCULO BRAQUIORRADIAL EM CARNÍVOROS SILVESTRES



Acadêmicos: Cátia Domingos Pires

Daiana Dutra Alves

Orientador: Gilberto Valente Machado

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo identificar aspectos morfológicos do músculo braquiorradial em carnívoros silvestres. Dentre os espécimes utilizados estão: um exemplar adulto, macho, de gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*), pequeno felino classificado na linhagem dos pumas, e que difere das outras espécies de felinos silvestres por apresentar coloração escura uniforme e formato do corpo alongado; um exemplar macho, adulto, de jagatirica (*Leopardus pardalis*), que apresenta porte médio e situa-se entre os maiores felinos neotropicais, sua pelagem é curta e marcada com rosetas (ocelos) que tendem a se unir na lateral do corpo, formando listras horizontais e cadeias paralelas; um espécime adulto, macho, de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), espécie encontrada em toda a América do Sul; um exemplar adulto, fêmea, de gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*), considerada a menor espécie de felino do Brasil, com porte e proporções corporais semelhantes aos do gato doméstico; um exemplar adulto, macho, de irara (*Eira barbara*), animal que pode apresentar pelagem marrom, cinza ou preta e, curiosamente, tem sido domesticado para controle de roedores. As dissecações promovidas nos exemplares de carnívoros silvestres acima mencionados tiveram o intuito de esclarecer, de forma comparativa, características anatômicas relacionadas ao músculo braquiorradial (*M. brachioradialis*), com vistas ao enriquecimento das informações contidas na literatura, considerando que as mesmas são escassas e pouco abrangentes, especialmente quando se referem aos carnívoros silvestres.

PALAVRAS CHAVE: Músculos do antebraço; m. braquiorradial; carnívoros silvestres.

INTRODUÇÃO

Considerando a importância crescente da medicina veterinária de animais silvestres e a escassez de dados disponíveis na literatura especializada relativos à morfologia de animais silvestres da fauna brasileira, paralelamente ao interesse da anatomia comparativa, o presente trabalho tem por objetivo a oferta de informações sobre a configuração anatômica do músculo braquiorradial (*M. brachioradialis*) em carnívoros silvestres da fauna brasileira. O estudo da anatomia de animais silvestres vem assumindo cada vez maior importância por oferecer bases fundamentais para procedimentos veterinários, seja em parques zoológicos ou em unidades de conservação, subsidiando o estabelecimento de correlações filogenéticas ou, por pressuposto, fundamentar discussões relativas aos diversos aspectos funcionais dos membros torácicos, em especial sobre os movimentos de pronação e supinação, reconhecidamente executados pelos mamíferos carnívoros.

Por se encontrarem no topo da pirâmide alimentar, os mamíferos carnívoros assumem grande importância ecológica, pois podem regular a população de presas naturais, de forma que não se multipliquem exponencialmente e venham a causar desequilíbrio ambiental ou prejuízos às lavouras.



O músculo braquiorradial do homem exerce papel de destaque na utilização das mãos, haja vista a sua importância como músculo supinador, o que contribui enormemente para a riqueza dos movimentos passíveis de serem executados pelas mãos como um todo.

Entretanto, quando a atenção se volta para os animais quadrúpedes, surgem inúmeras controvérsias quanto à real importância daquele músculo pois, com a ressalva dos carnívoros, as demais espécies não executam – ou o fazem com limitações – movimentos de pronação e supinação dos seus membros torácicos. Admite-se que os carnívoros (que são predadores naturais) desenvolvem movimentos melhor elaborados com os membros torácicos, dentre eles os de pronação e supinação, dadas as circunstâncias que os envolvem, por exemplo, durante as perseguições às suas presas, quando são necessários movimentos de rotação sobre os pontos de apoio ao solo. Estes animais, por sua vez, apresentam os dois ossos do antebraço – rádio e ulna – em contato longitudinal, porém não fundidos entre si, numa forma de união classificada como uma sindesmose.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Quando pesquisados os tratados de anatomia veterinária, as informações sobre a anatomia do músculo braquiorradial se assemelham nos aspectos gerais, tais como:

Segundo Evans & Christensen (1979), o m. braquiorradial do cão doméstico (*Canis familiaris*) apresenta-se reduzido e ocasionalmente ausente; sua forma estreita e alongada denota a sua pouca atividade; entretanto, afirmam ser o mesmo implicado na supinação do antebraço.

Wakuri & Kano (1966), citados em Evans & Christensen (1979), registraram a presença desse músculo em 35 de 90 cães examinados. Estes autores afirmam ainda que o citado músculo encontra-se na face cranial do antebraço, entre as fáscias superficial e profunda daquele segmento do membro torácico.

Bruni & Zimmerl (1977) afirmam que o m. braquiorradial é encontrado apenas nos carnívoros, porém mais frequentemente no gato. Estes autores, ao descreverem

o comportamento anatômico do referido músculo no cão, anunciam a sua origem na crista supracondilar do úmero, sua trajetória na face cranial do antebraço, e sua inserção na epífise distal do rádio, eventualmente na fileira proximal de ossos do carpo.

Outros autores, como Barone (1989), Getty (1986) e Anderson & Anderson (1994), ao discorrerem sobre a anatomia do músculo braquiorradial do cão, fazem menção ao mesmo em carnívoros domésticos, restringindo-se, no entanto, à sua forma geral e localização.

Santos et al. (2002) e Evans & De'Lahunta (1994) descrevem o músculo braquiorradial do cão como sendo uma faixa estreita e alongada, que percorre a face cranial do antebraço, até atingir a extremidade distal do rádio, onde faz inserção. Estes autores não mencionam o gato. Santos et al. (2002) acrescentam ainda que a principal função do mencionado músculo é contribuir para a rotação lateral do rádio (supinação), movimento este muito importante para as ações de captura de presas pelos carnívoros.

Nickel et al. (1986), Getty (1986) e Evans & Christensen (1979), ao discorrerem sobre o comportamento anatômico do músculo braquiorradial dos carnívoros domésticos, afirmam que o citado músculo é pouco desenvolvido no cão, chegando mesmo à ausência, seja unilateral ou bilateral; porém, ressaltam que no gato doméstico aquele músculo é sempre presente e razoavelmente desenvolvido, quando comparado ao cão doméstico.

Dyce et al. (1990) e Schaller (1994) discorrem sobre o músculo braquiorradial do cão como uma faixa muscular estreita e longa, situada logo abaixo da pele, na fáscia superficial do antebraço, orientando-se distalmente, paralelo à veia cefálica, até atingir a extremidade distal do rádio, onde faz a sua inserção. Mencionam ainda o seu maior desenvolvimento no gato doméstico, sem no entanto descrever a sua trajetória específica nesta última espécie.

Para Barone (1989), o músculo braquiorradial, antes referido como “m. supinador longo”, é um músculo alongado e fino, que se estende em posição superficial na face cranial do antebraço, sendo constante no homem e no gato, eventualmente ausente no cão, e nunca presente em coelhos, ruminantes e equinos.

Ellenberger & Baum (1977), ao descreverem o comportamento anatômico do músculo braquiorradial, afirmam que o mesmo é encontrado em carnívoros, sendo que no cão (*Canis familiaris*) pode estar ausente. Afirmam ainda ser mais

desenvolvido no gato, onde apresenta um ventre mais largo, quando comparado ao do cão. Referem-se à sua origem na crista supracondilar lateral do úmero e, numa trajetória descendente, acompanhando a veia cefálica, termina, mediante um tendão laminar estreito, medialmente na extremidade distal do rádio.



Publicações sobre o comportamento anatômico do músculo braquiorradial em carnívoros silvestres são escassamente encontradas na literatura especializada, o que pressupõe a necessidade da busca de informações relativas ao mesmo, em especial aqueles da fauna brasileira. Entretanto, Lima et al. (2010) relatam a presença do músculo braquiorradial em um exemplar de irara (*Procyon cancrivorus*), ocasião em que afirmam ser aquele músculo bem desenvolvido, com origem no epicôndilo lateral do úmero e inserção na extremidade distal do rádio. Afirmam ainda que o mesmo foi encontrado em ambos os membros daquele espécime.

METODOLOGIA

Para a realização do presente trabalho, utilizaram-se cinco exemplares de mamíferos carnívoros silvestres, todos vítimas de atropelamentos em rodovias regionais que, já em óbito, foram encaminhados pelo Batalhão da Polícia Militar Ambiental e doados, exclusivamente para utilização em pesquisas, ao Laboratório de Anatomia Veterinária da Faculdade Vértice – Univértix, procedimentos esses devidamente acompanhados, em todas as etapas, pelo Comitê de Ética da Instituição, à luz da Lei 1.153/95. Os espécimes utilizados foram: um exemplar adulto, macho, de gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*), pequeno felino classificado na linhagem dos pumas, e que difere das outras espécies de felinos silvestres por apresentar coloração escura uniforme e formato do corpo alongado; um exemplar macho, adulto, de jaguatirica (*Leopardus pardalis*), que apresenta porte médio e situa-se entre os maiores felinos neotropicais, sua pelagem é curta e marcada com rosetas (ocelos) que tendem a se unir na lateral do corpo, formando listras horizontais e cadeias paralelas; um espécime adulto, macho, de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), espécie encontrada em toda a América do Sul; um exemplar adulto, fêmea, de gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*), considerada a menor espécie de felino do Brasil, com porte e proporções corporais semelhantes aos do gato doméstico; um exemplar adulto, macho, de irara (*Eira barbara*), animal que

pode apresentar pelagem marrom, cinza ou preta e, curiosamente, tem sido domesticado para controle de roedores.

Imediatamente após o ingresso desses animais ao laboratório de anatomia, promoveu-se, mediante incisão cervical longitudinal e localização da artéria carótida comum esquerda, a colocação de cânula metálica compatível com o calibre daquele vaso. Em seguida, com a utilização de seringas plásticas, adaptadas àquela cânula metálica, injetou-se solução aquosa de formol a 10% em todo o sistema arterial, até que fosse observada alguma resistência à pressão exercida no êmbolo da seringa – nessas circunstâncias considera-se que o sistema arterial encontra-se satisfatoriamente preenchido pela solução. Na sequência, cada espécime injetado foi mergulhado em tanques contendo a mesma solução aquosa de formol a 10%, onde permaneceram por, pelo menos, 30 dias. Após esse período, cada cadáver foi submetido a dissecação, procedimento esse voltado exclusivamente para a observação dos músculos do antebraço, com foco especial para o músculo braquiorradial, bilateralmente, na seguinte sequência: a) incisão da pele na linha mediana ventral do tórax, seguida de incisão cutânea, a partir da primeira, agora seguindo a face medial dos membros torácicos, até ultrapassar, no sentido distal, a região do carpo; b) a partir das incisões supramencionadas, promoveu-se o afastamento cuidadoso da pele do braço e do antebraço, sem o comprometimento da tela subcutânea, tampouco a veia cefálica e os ramos superficiais do nervo radial; c) após o afastamento total da pele, passou-se à localização e identificação dos músculos do antebraço, em especial aqueles situados nas faces cranial e lateral do segmento; d) após identificado o músculo braquiorradial, promoveu-se a sua dissecação criteriosa, visando acompanhá-lo, desde a sua origem, a sua trajetória e o ponto exato de sua inserção.

Finalizadas as dissecações, e identificados os aspectos anatômicos de interesse, relacionados ao comportamento do músculo braquiorradial, passou-se à descrição detalhada dos mesmos, seguida de registros fotográficos, para documentação e publicação, com o uso de câmera digital (Sony cyber Shot, 8.1 megapixels).

ANIMAIS UTILIZADOS NA PESQUISA



Jaguatirica (*Leopardus pardalis*)

Segundo Nowell & Jackson (1996), a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) é uma espécie que apresenta porte médio e é considerada a maior do grupo dos pequenos felinos neotropicais, e seu peso corporal pode variar entre 7 e 16 kg. Por sua vez, Oliveira & Cassaro (2005) afirmam que o comprimento corporal desses animais varia de 50 a 80 cm, além de mais 20 a 40 cm de cauda; sua pelagem é variável, mesmo dentro de uma mesma população. Estes autores acrescentam que a jaguatirica é também referida pelos seguintes nomes: gato maracajá, marajá verdadeiro e marajá-açu - em inglês/francês ocelot; em espanhol manigordo, gato tigre, tigrillo, ocelote, gato onza, tigre chico tircón, cunaguaro, chivi guazú e macarajayá guazu.

Ainda segundo Oliveira & Cassaro (2005), assim como afirmam Redford & Eisenberg (1992), a Jaguatirica é um felino carnívoro, de habitat variado, habitando desde regiões de cerrado, caatinga, pantanal e, principalmente, florestas tropicais e subtropicais, sendo encontrada em grande parte do continente americano, desde as regiões sudeste do Texas, nos EUA, e oeste do México, até o norte da Argentina. No Brasil, a espécie ocorre em todas as regiões, exceto no Rio Grande do Sul.



Classificação científica:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Carnivora

Família: Felidae

Sub-família: Felinae

Gênero: *Leopardus*

Espécie: *L. pardalis*

Figura 01 – Fotografia panorâmica de um exemplar de jaguatirica (*Leopardus pardalis*). Fonte: Wikipédia (15/10/2014).

Emmons (1987) menciona que, na jaguatirica, os pelos na região da nuca estão dispostos em sentido contrário ao daqueles das demais regiões do corpo – em direção cranial e não caudal.



Rodrigues & Auricchio (1994) relatam que os hábitos da jaguatirica são solitários e que suas atividades são predominantemente noturnas, tendo área de vida variável de 0,76 a 38,8 km² de acordo com as características do habitat; afirmam ainda que o território dos machos é muitas vezes maior do que o das fêmeas, sendo exclusivo para cada macho.

Gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*)

Oliveira & Cassaro (2005) descrevem o gato-mourisco como sendo uma espécie de porte pequeno a médio, peso médio de 2 a 5kg, cabeça pequena, alongada e achatada, e orelhas pequenas e bem arredondas. Afirmam ainda que a sua coloração é uniforme, podendo apresentar uma aparência tordilha, com três tipos básicos: amarronzado, negro acinzentado e vermelho amarelada; difere das outras espécies por apresentar coloração uniforme e pelo formato de seu corpo alongado; todas essas colorações de pelagem podem ocorrer na mesma ninhada.



Classificação científica:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Carnivora

Família: Felidae

Gênero: *Puma*

Espécie: *P. yagouaroundi*

Figura 02 – Fotografia panorâmica de um exemplar de gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*). Fonte: Wikipédia (15/10/2014).

Segundo Oliveira (1994), a área de ocorrência do gato-mourisco abrange desde o sul do Texas, nos EUA, até a província de Buenos Aires e Rio Negro, na Argentina, e todo o território brasileiro, exceto o sul do Rio Grande do Sul. Seu habitat é extremamente variado, incluindo florestas tropicais e subtropicais, cerrado, caatinga, pantanal e vegetação secundária.

Redford & Eisenberg (1992) anunciam que os gatos-mouriscos são conhecidos por predação de aves domésticas, fato que pode ocasionar ação ilegal de caça desses animais, a fim de eliminá-los.

Segundo Oliveira & Cassaro (2005), outros nomes são usados para designar o gato-mourisco, tais como: gato-vermelho, gato-preto, jaguarundi, maracajá-uma - em inglês: jaguarundi; na Espanha: yaguarundi, onza, gato-moreno, gato irara, gato eyra. Na Bolívia: gato griz; na Colômbia: gato-pardo, gato servante; na Venezuela: gato cervante.

Gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*)

Oliveira & Cassaro (2005) afirmam que o gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*) é a menor espécie de felino do Brasil, com porte e proporções corporais semelhantes às do gato doméstico; os machos são em geral maiores do que as fêmeas e o peso do seu corpo varia de 1,75 a 3,5 kg, sendo o peso médio de 2,2 a 2,4kg.

Segundo Oliveira et al. (2008) o gato-do-mato habita desde o norte da Costa Rica até o sul do Brasil e norte da Argentina, ocupando geralmente ambientes variados, desde áreas mais abertas até aquelas com vegetação densa.



Classificação científica:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Carnivora

Família: Felidae

Gênero: *Leopardus*

Espécie: *L. tigrinus*

Figura 03 – Fotografia panorâmica de um exemplar de gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*). Fonte: Wikipédia (15/10/2014).

Redford & Eisenberg (1992) relatam que o gato-do-mato possui coloração mais clara e pintas pretas; a cauda possui anéis negros e a orelha uma mancha redonda e de coloração mais clara atrás; existe pequenas variações na coloração

desses animais, sendo possível a visualização de ocelos quando há incidência de luz.



Miller & Everett (1986) afirmam que o gato-do-mato pequeno possui grande preferência por florestas úmidas e montanhas.

Ainda Oliveira & Cassaro (2005) acrescentam outros nomes comuns ao gato-do-mato, tais como: tigrinos, maracajá; em inglês: oncilla, litle spotted.

Irara (*Eira barbara*)

Segundo Eisenberg & Redford (1999) e Presley (2000), a irara (*Eira barbara*) é a única espécie do gênero encontrada do centro do México ao norte da Argentina, sendo comum em toda a América Central e América do sul, incluindo o leste dos Andes e a ilha de Trindade.

Segundo Cheida et al. (2006), a irara (*Eira barbara*) ocorre em quase todo o território brasileiro, habitando desde a mata atlântica, a Amazônia, o cerrado, a caatinga e o pantanal, sendo mais comum em áreas de vegetação densa.



Classificação científica:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Carnivora

Família: Mustelidae

Gênero: *Eira*

Espécie: *E. barbara*

Figura 04 – Fotografia panorâmica de um exemplar de irara (*Eira barbara*). Fonte: Wikipédia (15/10/2014).

Emmons & Feer (1997) relatam que as atividades da irara se dão, predominantemente, durante o dia, com alguma atividade noturna ocasional. É caracteristicamente solitária, mas também pode ser vista aos pares.

Fontana & Bencke (2003) afirmam que a irara é uma espécie tipicamente florestal.

Nowak (1999) relata que esses animais podem se abrigar em árvores e troncos, em tocas feitas por outros animais, ou mesmo em áreas de gramíneas altas.

De acordo com Presley (2000), a espécie tolera a proximidade com habitações humanas e utiliza os recursos que esses ambientes alterados podem fornecer (pomares, plantações de cana de açúcar e campo de milho), apesar de ser raramente encontrada fora do habitat florestal. Este mesmo autor afirma ainda que a *Eira Barbara* é um animal onívoro oportunista e alimenta-se de frutas, insetos, mel e pequenos vertebrados (a maioria arborícola), aves e pequenos mamíferos, roedores e lagomorfos.

Segundo Emmons (1987), as iraras constroem suas tocas em árvores, ou em buracos encontrados no chão.

Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*)

Segundo Sillero-Zubiri & Hoffmam (2004), os canídeos apresentam a maior distribuição entre as famílias da ordem carnívora, estando representados por todo o globo e sendo divididos em seis macrorregiões: África subsaariana e América do Sul; regiões holárticas (norte dos continentes asiático, europeu e americano); norte da África e Oriente Médio, Sul e Sudeste da Ásia. Não são encontrados apenas nas ilhas oceânicas, Tailândia, Filipinas, Nova Zelândia, Nova Guiné e Austrália .

Stoskopf (2003) relata que a audição, o olfato e a visão dos canídeos são apurados e os hábitos podem ser noturnos, diurnos ou crepusculares, de acordo com a espécie, ou mesmo com o habitat e a disponibilidade de alimentos. Algumas espécies possuem hábitos gregários, formando bandos que, às vezes, alcançam 30 indivíduos e que envolvem um sistema de hierarquia e relacionamento bastante elaborado, enquanto outros se mantêm solitários, formando pares apenas na época da reprodução.

Segundo Stoskopf (2003), em determinada época do ano, alguns canídeos sul americanos, como o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), consomem uma planta denominada lobeira (*Solanum lycocarpum*), que podem representar 40% ou mais do total da sua dieta.



Classificação científica:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Carnivora

Família: Canidae

Gênero: *Chrysocyon*

Espécie: *C. brachyurus*

Figura 05 – Fotografia panorâmica de um exemplar de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*). Fonte: Wikipédia (15/10/2014).

Santos (1999), estudando a dieta do lobo-guará ao longo de um ano, no Estado de Minas Gerais, encontrou a seguinte composição média: 29% de frutos da lobeira (*Solanum lycocarpum*), 13% de mamíferos, 12% de artrópodes, 11% de aves e 2% de répteis, sendo que frutas e insetos foram os itens predominantes na estação chuvosa e mamíferos na estação seca.

Wozencraft (2005) afirma que estes animais são bastante dependentes da lobeira (*Solanum lycocarpum*) e estabelecem com esta planta uma relação simbiótica – sem as frutas da lobeira, o lobo-guará morre de complicações renais causadas por nematóides; em contrapartida, o lobo-guará tem um papel fundamental na dispersão das sementes desta planta.

RESULTADOS

Após realizada a dissecação dos membros torácicos de um exemplar adulto, macho, de jaguatirica (*Leopardus pardalis*), com vistas ao estudo do comportamento anatômico do músculo braquiorradial (*M. brachioradialis*), verificou-se que, no espécime em apreço, o mencionado músculo apresenta forte predomínio, quanto à largura do seu ventre, sobre os demais músculos situados na região craniolateral do antebraço (Fig. 06).

A origem do m. braquiorradial se deu na crista supracondilar lateral do úmero, e sua inserção, por meio de um tendão delgado, porém denso, foi vista sobre o

periósteo da face medial, na epífise distal do rádio, bem próximo à tróclea deste osso.



Figura 06 – Fotografia da face lateral do braço e antebraço esquerdos da jaguatirica (*Leopardus pardalis*), após dissecação e destaque do músculo braquiorradial (sobre a pinça). Matipó, 2014.

Concluída a dissecação dos membros torácicos de um espécime adulto, macho, de gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*), objetivando o acréscimo de dados sobre o comportamento anatômico do músculo braquiorradial (*M. brachioradialis*), observou-se que, no exemplar em estudo, o mencionado músculo apresenta-se razoavelmente desenvolvido, em especial pela largura do seu ventre, com forte predomínio sobre os demais músculos da região craniolateral do antebraço (Fig. 07).

Neste exemplar de gato-mourisco, a origem do m. braquiorradial foi observada sobre a crista supracondilar lateral do úmero e, após trajetória sobre a face cranial do antebraço, sempre mantendo a regularidade na largura do seu ventre, promoveu sua inserção, por meio de um fino tendão, no periósteo da face medial da epífise distal do rádio, bem próximo à tróclea daquele osso.



Figura 07 - Fotografia da face lateral do braço e antebraço direitos do gato-mourisco (*Puma yagouaroundi*), após dissecação e destaque do músculo braquiorradial (sobre a pinça). Matipó, 2014.

Após realizada a dissecação dos membros torácicos de um espécime adulto, fêmea, de gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*), com vistas ao estudo do comportamento anatômico do músculo braquiorradial (*M. brachioradialis*), observou-se que, no espécime em apreço, o mencionado músculo apresenta-se bastante desenvolvido, em especial pela largura do seu ventre, bem como pela regularidade da mesma, que se mantém até bem próximo do seu local de inserção. É visível o predomínio do mencionado músculo, quando considerado o seu volume, quando comparado aos demais músculos situados na região cranio lateral do antebraço deste animal (Fig. 08).

No exemplar de gato-do-mato objeto da presente pesquisa, a origem do m. braquiorradial se deu na crista supracondilar lateral do úmero e, após trajetória descendente pela face cranial do antebraço, sua inserção foi observada, por intermédio de um tendão achatado, no perióstio da face medial, na epífise distal do rádio, bem próximo à tróclea deste osso.



Figura 08 - Fotografia da face lateral do braço e antebraço esquerdos do gato-do-mato (*Leopardus tigrinus*), após dissecação e destaque do músculo braquiorradial (sobre a pinça). Matipó, 2014.

Concluída a dissecação e feitas as observações sobre o comportamento anatômico do músculo braquiorradial em um exemplar adulto, macho, de irara (*Eira barbara*), com vistas ao acréscimo de dados sobre aquele músculo, observou-se que, no exemplar em apreço, o m. braquiorradial apresenta-se consideravelmente desenvolvido, mantém a largura do seu ventre em toda a extensão do antebraço, cuja face cranial ocupa na sua quase totalidade, destacando-se, portanto, em relação aos demais músculos daquela face do antebraço (Fig. 09).

No espécime ora estudado, a origem do m. braquiorradial foi confirmada junto à crista supracondilar lateral do úmero, e sua inserção foi verificada, através de um tendão estreito, porém denso, perióstio da face medial da epífise distal do rádio, bem próximo à tróclea daquele osso. Ressalte-se aqui o considerável grau de desenvolvimento daquele músculo, cuja presença na face cranial do antebraço é ressaltada quando comparada a sua dimensão com a dos demais músculos regionais.



Figura 09 - Fotografia da face lateral do braço e antebraço direitos de um exemplar de irara (*Eira barbara*), após dissecação e destaque do músculo braquiorradial (sobre a pinça). Matipó, 2014.

Após realizada a dissecação dos membros torácicos de um exemplar adulto, macho, de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), com vistas ao estudo do comportamento anatômico do músculo braquiorradial (*M. brachioradialis*), verificou-se que, no espécime em apreço, o mencionado músculo apresenta-se como uma longa e delgada faixa, dispondo-se sobre a face cranial do antebraço e, paralelamente à veia cefálica e os ramos superficiais do nervo radial, estende-se até as imediações da epífise distal do rádio. Seu ventre, estreito e longo, se mantém uniforme em toda a sua extensão. Assim como a veia cefálica e nervos, o m. braquiorradial acha-se envolto por tecido conjuntivo frouxo, destacando-se, portanto, dos demais músculos do antebraço (Fig. 10).

No exemplar de lobo-guará ora pesquisado, verificou-se a origem do m. braquiorradial sobre a crista supracondilar lateral do úmero e, após trajetória descendente pela face cranial do antebraço, sua inserção foi observada, mediante um estreito e delicado tendão, no periósteo da face medial da epífise distal do rádio.



Figura 10 - Fotografia da face lateral do antebraço esquerdo de um exemplar de lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), após dissecação e evidênciação do músculo braquiorradial (sobre a pinça). Matipó, 2014.

DISCUSSÕES

A análise dos resultados obtidos após dissecação dos músculos do antebraço de um exemplar de cinco espécies de mamíferos carnívoros silvestres, diante do que se expõe na literatura especializada, seja em livros textos ou em artigos de periódicos, reportando sobre o comportamento anatômico do músculo braquiorradial em carnívoros domésticos, nos permitem cotejar diferentes aspectos.

Neste trabalho, em todos os cinco exemplares examinados (100%), constituídos de três representantes felinos (*Leopardus pardalis*, *Leopardus tigrinus* e *Puma yagouaroundi*), um canídeo (*Chrysocyon brachyurus*) e um mustelídeo (*Eira Barbara*), observou-se a apresentação bilateral do músculo braquiorradial, assim como uma marcante simetria quando comparados bilateralmente entre si. Estes fatos não se coadunam com os achados de Wakuri & Kano (1966), apontados no cão doméstico (*Canis familiaris*), onde, ao estudarem 90 animais, encontraram o m. braquiorradial em apenas 35 deles (38%). Estes autores, no entanto, não ressaltam se o músculo em questão era de ocorrência uni ou bilateral.

Ainda sob o aspecto de sua presença em cães, Santos Jr et al. (2002) concluíram que, de 326 animais estudados, o m. braquiorradial esteve presente em 175 (53,68%), sendo que 110 animais (33,74%) o exibiram bilateralmente, 38 animais (11,65%) apenas no membro esquerdo, e 27 deles (8,28%) somente no membro direito.

De acordo com Getty (1986), Nickel et al. (1986), Evans & Christensen (1979), Evans & De'Lahunta (1994), Schaller (1994) e Dyce et al. (1990), o músculo braquiorradial é um músculo estreito, delgado e superficial, que se origina na crista epicondilar lateral, corre ao longo da face cranial do músculo extensor radial do carpo, para inserir-se no rádio. É ausente ou bastante discreto nos cães e bem desenvolvido nos gatos. Os resultados apontados pelos diferentes autores acima mencionados, em relação à morfologia do músculo braquiorradial em cães estão de acordo com os resultados obtidos na presente investigação, quando comparados com os do lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), único representante canídeo do nosso material, onde o referido músculo se apresentou como uma faixa estreita e longa, disposto sobre a face cranial do músculo extensor radial do carpo. Esses mesmos autores, mesmo referindo-se ao gato doméstico (*Felis catus*) como animal em que o músculo braquiorradial é mais desenvolvido, não se dedicam à descrição do mesmo pois, nos parece ser, com base no grande desenvolvimento do mencionado músculo nos representantes felinos do nosso material, nesses animais, merecedores de descrições mais detalhadas.

Outros autores (ELLENBERGER & BAUM, 1977) descrevem a morfologia, assim como a ação do músculo braquiorradial nos carnívoros domésticos sem, no entanto, fazer qualquer alusão à freqüência com que aparece naqueles animais.

CONCLUSÕES

Apesar do pouco número de animais investigados, na presente pesquisa, pois tratam-se de animais silvestres, ocasionalmente obtidos, e por circunstâncias lamentáveis (atropelamentos em rodovias), confirmam-se os pressupostos de que o músculo braquiorradial (*M. brachioradialis*) é mais desenvolvido entre os felinos, quanto cotejados aos achados em canídeos (*Chrysocyon brachyurus*). Cabe aqui a ressalva do seu maior grau de desenvolvimento ter sido observado, na presente pesquisa, no exemplar mustelídeo (*Eira barbara*), o que corrobora a expectativa de que, do ponto de vista funcional, o músculo em questão contribui para o incremento

das habilidades na utilização dos membros torácicos, como supinadores que são, dotando assim os felídeos e mustelídeos, em prejuízo dos canídeos, de melhor desempenho nas escaladas em troncos e outros obstáculos.



REFERÊNCIAS

ANDERSON, W.D.; ANDERSON, B.G. **Atlas of Canine Anatomy**. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 889. 1994.

BARONE, R. **Anatomie comparee de mammifères domestiques**. 3 ed. Paris: Editora Vigot. p. 731-733. 1989.

BRUNI, A.C.; ZIMMERL, U. **Anatomia degli animali domestici**. 2 ed. Roma: Editrice Francesco Vallardi. p. 353-355. 1979.

CHEIDA, C.C. & NAKANO-OLIVEIRA, E.; FUSCO-COSTA, R.; ROCHA-MENDES, F & QUADROS, J. ORDEM CARNIVORA. IN. REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A. & LIMA, I.P. (eds.). **Mamíferos do Brasil**. Londrina. p. 437. 2006.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 567. 1990.

EISENBERG, J.F. & REDFORD, K.H. **Mammals of the tropics: the central neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brasil**. University of Chicago, p. 609. 1999.

ELLENBERGER, W.; BAUM, H. HANDBUCH DER VERGLEICHENDEN ANATOMIE DER HAUSTIERE. Berlin: Springer-Verlag. p. 1155. 1977.

EMMONS, L.H. **Comparative feeding ecology of felidae in neotropical rainforest**. Behav. Ecol. Sociobiol., v. 20, p. 271-283, 1987.

EMMONS, L.H. & FEER, F. **Neotropical rainforest mammals: a field guide**. Chicago: University of Chicago Press. 1997.

EVANS, H.E.; CHRISTENSEN, G.C. MUSCLES. IN: MÜLLER'S **Anatomy of the dog**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders. Cap. 6, p. 269-408. 1979.

EVANS, H.E.; DE'LAHUNTA, H. **Guia para a dissecação do cão**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 206. 1994.

FONTANA, C.S.; BENCKE, G.R.E. **Livro vermelho da fauna ameaçada do Rio Grande do Sul**. Porto alegre: Edipucrs. p. 632. 2003.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5ed. Rio de Janeiro: Interamericana, p. 2000. 1986.

LIMA, V.M.; PEREIRA, F.C.; PEREIRA, K.F. Estudo morfológico dos músculos do antebraço de mão-pelada, *Procyon cancrivorus* CUVIER, 1798. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 26, n. 1, p. 109-114, 2010.



MILLER, S.D.; EVERETT, D.D. **Cats of the world: biology, conservation and management.** Washington: National Wildlife Federation, p. 125-146. 1986.

NOWELL, K.; JACKSON, P. Wild cats: status survey and conservation action plan. Gland: **International Union for Conservation of Nature**, p. 382. 1996.

NOWAK, R.M. **Walker's mammals of the World.** 6ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. p. 704-748. 1999.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. **The anatomy of domestic animals.** 1ed. Hamburg: Verlag Paul Parey. v.1. p. 499. 1986.

OLIVEIRA, T.G. **Neotropical Cats: ecology and conservation.** São Luis: Edufma (Universidade Federal do Maranhão), 1994.

OLIVEIRA, T.G.; CASSARO, K. **Guia de campo dos felinos do Brasil.** São Paulo: Instituto Pro-carnívoros, Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Sociedade de Zoológicos do Brasil, pro-vida Brasil, p. 80. 2005.

OLIVEIRA, T.G.; EIRIZIK, E.; SCHIPPER, J.; VALDERRAMA, C. *Leopardus tigrinus*. In: **IUCN – Red list of threatened species.** 2008.

PRESLEY, S.J. *Eira Barbara*. Mammalian Species, 636: 1-6. 2000.

REDFORD, K.H.; EISENBERG, J.F. **Mammals of the Neotropics.** The Southern Cone. London: University Chicago Press, v.2. 1992.

RODRIGUES, A.S.M.; AURICCHIO, P. Felinos do Brasil. São Paulo: Terra Brasilis, p.17. 1994.

SANTOS, L.C. **Laboratório Ambiental.** 1ed. Cascavel: Edunioeste. 1999.

SANTOS JUNIOR, I.; RODRIGUES, C.A. ;CAMPOS, A.; SANTOS, D. Presença do músculo braquiorradial em cães. **Bioscience journal:** Uberlândia, v. 18, n.1, p .79-83, Junho. 2002.

SILLERO-ZUBIRI, C.: HOFFMANN, M. **Species status accounts an introduction.** In: Sillero-Zubiri, C.; Hoffmann, M.; Macdonald, D.W. Caid: foxes, wolves, jackals and dogs. IUCN/SScC Anid Specialist Group. p. 22-25. 2004.

SCHALLER, O. **Nomenclatura Anatômica Veterinária Ilustrada.** 1ed. São Paulo: Manole. p. 614. 1994.

STOSKOPF, S.K. CANIDAE. In: MURRAY, E.; FOWLER; MILLER, R.E. **Zoo and Wild Animal Medicine.** 5ed. Saunders/Elsevier. Cap. 47, p. 482-491. 2003.

WAKURI, H.; KANO, Y. Anatomical studies on the brachioradial muscle in dogs.
Acta. Anat. Nipponica. v.41, p. 222-231. 1966.

WOZENCRAFT, W.C. IN: WILSON, D.E.; REEDER, D.M. **Mammals Species of the World.** Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005.



INCIDÊNCIA DE OTITE EXTERNA EM CÃES ATENDIDOS NA CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS DA FACULDADE VÉRTICE, EM MATIPÓ, MINAS GERAIS.



Acadêmicos: Elvio Barros Figueiredo Junior

Josineia Souza Silva

Orientador: Rogério Oliva Carvalho

RESUMO

A otite externa pode ser conceituada como uma inflamação (aguda ou crônica) do meato acústico externo com o envolvimento de diferentes agentes etiológicos e fatores predisponentes e perpetuantes que se relacionam com a infecção em cães. O objetivo do trabalho foi avaliar a incidência de otite externa nos atendimentos de cães na clínica de pequenos animais da Faculdade Vértice-Univértix na cidade de Matipó, Minas Gerais. Foi feito um estudo descritivo quantitativo e epidemiológico dos casos de otite externa canina diagnosticada na clínica de pequenos animais. Foram analisadas as fichas clínicas dos animais período de julho do ano de 2012 a junho de 2014, com objetivo de identificar o total de cães atendidos com otite externa em Matipó. Foi um total de 448 cães positivos, que foram separadas de acordo com o sexo, idade e raça. A casuística de animais atendidos com otite externa foi de 8,71%, foi observada maior incidência em machos e idade superior a 3 anos. A otite externa pode ser conceituada como uma inflamação multifatorial que acomete a orelha externa dos cães, sendo de grande importância a identificação do agente causador para estabelecer tratamento adequado.

PALAVRAS CHAVE: otite externa, inflamação, cães, incidência.

INTRODUÇÃO

A otite externa é uma inflamação do meato acústico externo, e que pode envolver a parte mais próxima do pavilhão auricular, podendo ser decorrente de diversas causas, como bactérias, fungos e parasitas, corpos estranhos e ltraumatismos no pavilhão auricular e pavilhão auricular (SANTOS e ALESSI, 2010; ETTINGER *et al.*, 2014)

É considerada dos principais motivos para consultas na clínica veterinária, sendo que em 76% dos casos a otite é externa e crônica, apresentando alta incidência de recidivas (REOLON *et al.*, 2011).

De acordo com Santos e Alessi (2010) os cães de raças que possuem orelhas pendulosas e com grande quantidade de pelo meato acústico, estão mais predispostos a desenvolverem a infecção. Ambos impedem adequada circulação de ar e eliminação do cerúmen do meato acústico, e mantem uma umidade excessiva naquele conduto, predispondo ao desenvolvimento de agentes infecciosos.

Os principais sinais clínicos apresentados pelos animais incluem dor, prurido, moneios cefálicos, secreção otológica, odor desagradável e sinais de desconforto como nervosismo e agitação (OLIVEIRA *et al.*, 2005).



O diagnóstico deve ser realizado mediante um exame sistemático e completo de todo animal, o qual deve sempre incluir anamnese, exame físico, otoscopia e citologia da secreção auricular, realizando-se sempre que possível cultura microbiana e antibiograma (SILVEIRA *et al.*, 2008).

Este trabalho tem como objetivo realizar um levantamento da incidência de otite externa em cães atendidos de 2012 a 2014, na clínica de pequenos animais da Faculdade Vértice- Univértix, em Matipó, Minas Gerais.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

ANATOMIA E FISIOLOGIA.

A orelha é um órgão sensorial responsável por recepção do estímulo auditivo, transdução mecânica do estímulo e transmissão dos impulsos nervosos a regiões específicas do sistema nervoso central, além de atuar como um órgão do equilíbrio (SANTOS e ALESSI *et al.*, 2010).

Anatomicamente a orelha é dividida em três partes. A orelha externa que é composta pela aurícula e o meato acústico externo, a orelha média que consiste em membranas timpânicas, bula óssea e ossículos auditivos, e o interno formado pelos labirintos ósseo e membranoso, que estão localizados na porção petrosa do osso temporal (REOLON *et al.*, 2011).

O meato acústico é um tubo cartilaginoso revestido por pele, contendo folículos pilosos e glândulas sebáceas e apócrinas modificadas (ceruminosas). Células de descamação e secreções glandulares formam o cerume, o qual é transportado para fora do canal auditivo pelo processo de limpeza da migração de células epiteliais. (PATEL e FORSYTHE, 2010).

As glândulas apócrinas são conhecidas como glândulas ceruminosas. Glândulas sebáceas são encontradas superficialmente na derme, enquanto as glândulas ceruminosas têm distribuição mais profunda. Uma combinação de secreções ceruminosas e sebáceas, juntamente com células de descamação, é o material que compõe a cera da orelha normal (cerume) (NASCENTE *et al.*, 2005).

O epitélio de revestimento da face externa da membrana timpânica apresenta características de renovação celular bastante particular. Em sua área mais central, a atividade mitótica é bastante elevada, o que faz com que a renovação celular se dê de maneira centrífuga (FEITOSA, 2008). A autolimpeza do meato acústico é no mínimo um produto em parte da migração epitelial lateral, começando com o movimento de células epiteliais desde a membrana do tímpano (ETTINGER *et al.*, 2014).

ETIOLOGIA

Existe uma variedade de bactérias e leveduras que colonizam o meato acústico, incluindo *Malassezia* spp., *Staphylococcus* coagulase-negativos, *Streptococcus* spp. e outros. Sob circunstâncias normais, estes micro-organismos não são patogênicos e cumprem um importante papel na ocupação de nichos microbianos, prevenindo a colonização por micro-organismos mais patogênicos (PATEL e FORSYTHE, 2010).

Tendo em vista que os micro-organismos da microbiota normal são os usualmente isolados em casos de otite externa, fatores que favoreçam a multiplicação descontrolada desses agentes são importantes para a patogênese da doença.

O fungo *Malassezia pachydermatis* e as bactérias *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. são os agentes mais frequentemente isolados da orelha de cães, com ou sem otite (SANTOS e ALESSI, 2010). *Malassezia pachydermatis* é uma levedura normalmente encontrada em baixa quantidade no canal auditivo externo, nas áreas periorais, em regiões perianais e em dobras cutâneas úmidas. Quando ocorre uma reação de hipersensibilidade a esta levedura ou quando há um supercrescimento desses organismos, ocorre a dermatopatia (HNILICA, 2012).

ETTINGER *et al.* (2014) definiram os fatores primários da otite externa como aqueles que são capazes de iniciar uma inflamação nas orelhas normais. Segundo Oliveira *et al.* (2006), a otite externa é uma doença de etiologia multifatorial com numerosos fatores pré-disponentes que se relacionam com a infecção. As quais podem causar otite externa, com ou sem a presença dos mesmos predisponentes ou perpetuantes. Entre as causas primárias estão as bactérias (*Staphylococcus intermedius*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium* spp, e

Escherichia coli), os ectoparasitas (*Otodectes cynotis*), corpos estranhos, tumores otológicos, desordens de ceratinização, distúrbios imunomediados, erupção medicamentosa e hipersensibilidades (SILVEIRA *et al.*, 2008; SANTOS e ALESSI, 2010).



Dentre os fatores primários estão os ácaros do gênero *Otodectes* que são parasitas frequentemente encontrados na orelha de cães e gatos (HNILICA, 2012). Os ácaros da orelha são altamente contagiosos e não apresentam preferência por sexo, idade ou raça, de forma que todos os animais contactantes podem estar infectados (NASCIMENTO, 2007). Os ácaros não devem estar presentes em esfregaço de orelha canino normal, mas gatos adultos podem ser portadores assintomáticos (HNILICA, 2012).

Os fatores predisponentes são aqueles que colocam o paciente num maior risco de desenvolver a doença auditiva. Temperatura e umidade aumentadas dentro da orelha predispõem a otite pela alteração da função da barreira normal da epiderme. Raças que possuem orelhas pendulosas são mais predispostas a desenvolver otite externa, provavelmente devido à má aeração, umidade e temperaturas elevadas (PATEL e FORSYTHE, 2010; ETTINGER, *et al.*, 2014).

Os fatores perpetuantes são aqueles que não permitem a resolução da otite externa, como, por exemplo, infecções por outros micro-organismos, entre eles, *Malassezia pachydermatis*, respostas patológicas a otite externa, como hiperplasia epidérmica, que tende a causar estenose luminal e hiperplasia de glândulas ceruminosas, resultando em aumento da produção de cerume, aumento da descamação e a redução da migração das células epiteliais, resultando no acúmulo de secreção auricular. Em casos crônicos, uma ou mais variáveis poderão estar presentes (NASCENTE *et al.*, 2010; PATEL e FORSYTHE, 2010).

Estudos mostram que a quantidade de cerúmen presente na orelha influencia no grau de infestação pelo ácaro, quanto maior a quantidade de cerúmen, menor a quantidade de ácaro nas orelhas (NASCIMENTO, 2007).

A etiologia multifatorial inclui o gênero *Staphylococcus*, principalmente as espécies *pseudointermedius* e *S. intermedius* e a *Malassezia pachydermatis* como principais agentes (NOBRE *et al.*, 1998). Outras bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus anarabilis*, *Escherichia coli* e *Klesbicela pneumoniae*, *Streptococcus* spp, também contribuem para a patogênese da otite (SANTOS e ALESSI, 2010).

De acordo com Patel e Forsythe (2010), a otite externa recorrente é provavelmente um sinal de problema sistêmico que necessita ser identificado e corrigido, e não uma doença confinada exclusivamente nos canais auditivos, porque tanto as doenças de pele quanto a doença sistêmica podem levar a otite externa.



INCIDÊNCIA

A otite externa representa uma das patologias auditivas mais importantes que acometem os cães, com prevalência de 20% na população canina, sendo sua prevalência ainda maior em regiões que apresentam clima tropical, provavelmente próxima a 30 ou 40%, (MARTINUZZI *et al.*, 2011). Oliveira *et al.*, (2005) destacam que as otites representam 8 a 15% dos casos atendidos na prática clínica, desses, 76% refere-se a otite externa crônica. Para estes autores, quase 40% dos cães com dermatopatias demonstram algum comprometimento do aparelho vestibulo-coclear.

Esta inflamação é descrita como a terceira apresentação dermatológica mais comum na prática de pequenos animais, sendo considerada como uma apresentação clínica comum. Entretanto a otite externa é uma doença complexa e a grande variedade de fatores predisponentes e primários torna a epidemiologia difícil de definir (PATEL, 2010).

DIAGNOSTICO

A otite externa é mais comumente diagnosticada baseada nos achados clínicos, sendo que posteriormente são feitos outros métodos diagnósticos como citologia e cultura microbiana (MARTINUZZI *et al.*, 2011).

Ao exame físico, verifica-se a simetria das orelhas a inspeção visual. Examina-se o pavilhão auricular e a pele em torno da base de cada orelha, verificando a existência ou não de eritema, alopecia, crostas ou lesões cutâneas. Pode-se esticá-lo dorsalmente com delicadeza e fazer uma inspeção visual de cada meato acústico com uma lanterna, em busca de sinais de irritação ou produção excessiva de cerume, devendo-se registrar qualquer odor, secreção, alteração de cor ou evidência de dor (RADOSTITS *et al.*, 2013).

O exame otoscópico deve incluir a observação do seguinte: presença de corpos estranhos, parasitas, o grau de inflamação dentro dos meatos, a quantidade

e a natureza do exsudato, alterações proliferativas e a aparência da membrana timpânica (ETTINGER *et al.*, 2014).



A otoscopia sob ausência de sedação, deve ser iniciada com o animal em decúbito esternal ou em posição quadrupedal, contido por um auxiliar que deve apoiar o crânio do animal com a mão sob a mandíbula, a fim de evitar movimentos bruscos da cabeça (FEITOSA, 2008.).

Uma vez contido fisicamente ou sob anestesia ou sedação, inicia-se a otoscopia tracionando-se dorsalmente o pavilhão e introduzindo-se gradativamente e delicadamente o espéculo do otoscópio (FEITOSA, 2008.). As alterações de superfície do conduto auditivo, observáveis durante a otoscopia, podem assumir uma gama extensa de características, o próprio cerúmen muda suas características na presença de quadros inflamatórios, aumentando em volume ou assumindo colorações que vão do ocre ao marrom-escuro (FEITOSA, 2008; ETTINGER *et al.*, 2014).

Se o exame for de otite bilateral, a orelha menos atingida deve ser examinada antes. Isto diminuirá a possibilidade de o animal resistir ao exame do outro ouvido e também diminuirá a possibilidade de o animal transmitir algum agente infeccioso à orelha sã (LOUREIRO, 2006)

A citologia de swab ou de lavado do meato acústico é um método auxiliar na identificação de agentes micóticos e parasitários existentes no meato (SANTOS e ALESSI, 2010). Quando são encontradas quantidades excessivas de debris ceruminosos ou exsudatos inflamatórios dentro dos meatos acústicos, o exame citológico deve ser realizado e repetido a cada visita de acompanhamento (ETTINGER *et al.*, 2014).

Cultura microbiológica e testes de sensibilidade não precisam ser rotineiramente realizados, principalmente quando o clínico dominar a técnica de exame citológico e o fizer regularmente (SANTOS e ALESSI, 2010).

O diagnóstico laboratorial e a identificação dos agentes nestas enfermidades se fazem necessários, para evitar a seleção de cepas resistentes e a alteração da microbiota, que facilitaria o desenvolvimento de agentes oportunistas como a *Malassezia pachydermatis* (NOBRE *et al.*, 1998). Os esfregaços de orelhas normais revelam apenas uma bactéria ocasional ou um microorganismo *Malassezia* por campo de imersão (ETTINGER *et al.*, 2014).

TRATAMENTO



Embora a otite externa não represente uma ameaça à vida animal, é dolorosa e requer tratamento imediato. Porém, a resposta ao tratamento pode ser complicada devido a etiologias multifatoriais que concorrem para o estabelecimento desta enfermidade (LOUVEIRO, 2006).

O Tratamento da otite externa deve ser realizado com limpeza, administração de antibióticos tópicos e agentes antimicrobianos (MARTINS *et al.*, 2011). A limpeza da orelha em geral é conseguida com o uso de ceruminolíticos tópicos, que são geralmente surfactantes e detergentes, que emulsificam, amolecem e degradam os debrís de cera e exsudato. A maioria das medicações tópicas indicadas para o tratamento de otite externa contém glicocorticóide em combinação com antifúngico e ou/ antibiótico (ETTINGER *et al.*, 2014).

O tratamento antimicrobiano deve ser baseado nos testes de cultura e antibiograma (PATEL e FORSYTHE, 2010; HNILICA, 2012).

A retirada de pelos intraluminais é realizada de forma não seletiva, o que acarreta tanto a eliminação de pelos de cobertura como sensoriais. A retirada de pelos sensoriais inicia a inflamação da região, com aporte de células inflamatórias, vasodilatação e edema e logo se instala uma inflamação do tipo exsudativa. Devendo portanto cortar e não arrancar os pelos (LEITE, 2005).

A cirurgia deve ser considerada como último recurso quando o tratamento médico for ineficaz ou inapropriado (PATEL e FORSYTHE, 2010).

METODOLOGIA

Foi feito um estudo descritivo quantitativo e epidemiológico dos casos de otite externa canina diagnosticado na clínica de pequenos animais da Faculdade Vértice –Univértix, em Matipó, Minas Gerais.

Foram analisadas as fichas clínicas do Hospital Escola Univértix do período de julho do ano de 2012 a junho de 2014, com objetivo de identificar o total de cães atendidos com otite externa na cidade de Matipó. Com o total de 448 fichas clínicas, as mesmas foram separadas de acordo com o sexo, idade e raça dos animais atendidos. Os resultados foram submetidos e processados no *Microsoft Office Excel*.

Foi determinada a incidência de otite externa em cães atendidos em Matipó.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

De um total de 448 cães atendidos, 39 foram diagnosticados como otite externa distribuídos em nove raças e animais sem raça definida (SRD). Estes animais positivos eram, na maioria da raça Poodle, representando 46% dos casos (figura 1).

Segundo Patel e Forsythe (2010) cães da raça Poodle são predispostos a desenvolverem otite externa devido a grande quantidade de pelos no canal auditivo que retêm a umidade. Os Labradores Retriever, terceira raça com maior numero de casos (figura 1), está entre as raças com predisposição para desenvolver otite por ter o nível de tecido glandular ceruminoso aumentado no canal auditivo (ETTINGER *et al.*, 2014).

Nascente *et al.*, (2010) em um estudo no Rio Grande do Sul relata uma maior frequência de otite em cães sem raça definida, seguido do Cocker Spaniel Inglês e do Poodle, segundo este autor, ser um cão de raça definida (SRD) não é importante e sim o aspecto da orelha, sendo mais comum (82,7% dos casos) em animais de orelha pendular. Silveira *et al.* (2008) também constataram uma maior ocorrência de otite em cães sem raça definida. No presente trabalho os cães SRD foram o segundo em ocorrência de casos de otite (FIGURA 1).

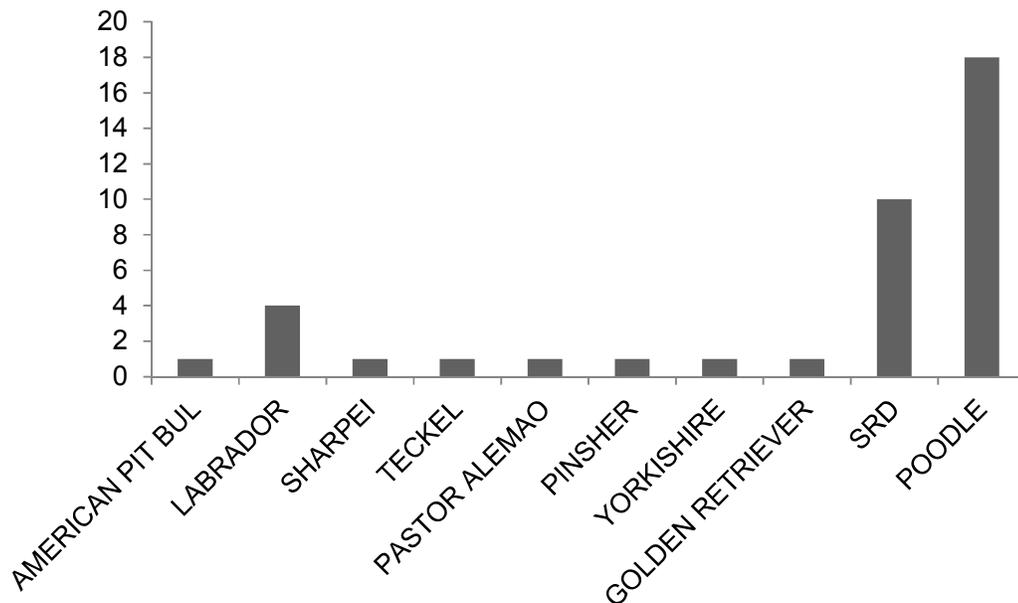


Figura 1- Numero de animais diagnosticados com otite externa na clínica de pequenos animais da Faculdade Vértice- Univértix, no período de julho de 2012 a junho de 2014, distribuídos de acordo com a raça.

Quando comparado entre os sexos, foi constatado que apesar do número de fêmeas atendidas no período de estudo (258 animais) ter sido maior que o de machos atendidos no mesmo período (190 animais), houve mais casos de otite nos machos do que nas fêmeas (FIGURA 2).

Fato este também observado por Megide *et al.* (1990), em seu estudo com cães na cidade de Londrina, Paraná, relataram uma maior incidência de otite externa em cães machos, com raça definida, destacando o Pastor Alemão como o mais acometido. Outros autores não observaram predisposição da otite relacionada ao sexo dos animais (MOTA *et al.*, 2000; MACHADO *et al.*, 2003; SILVEIRA *et al.*, 2008).

Figura 2- Numero de casos de otite externa por sexo, no total de animais (machos e fêmeas) atendidos no período de julho de 2012 a junho de 2014.

A comparação por faixa etária dos animais revelou um maior incidência em animais com idade superior a três anos (FIGURA 3). Resultados semelhantes aos de Megide *et al.* (1990), que observaram maior frequência de otite em cães com idade entre 2 e 5 anos.

Figura 3- Numero de animais diagnosticados com otite externa na clínica de pequenos animais da Faculdade Vértice- Univértix, no período de julho de 2012 a junho de 2014, distribuídos de acordo com a faixa etária.

A otite externa ocorreu em 8,71% dos animais atendidos durante o período estudado, estando de acordo com Oliveira *et al.*, (2005), que constatou que a otite externa representam 8 a 15% dos casos atendidos na prática clínica, assim como Penna *et al.*, (2007) que consideram a otite externa como importante patologia de cães, acometendo de 5 a 20% dos animais.

Cardoso *et al.* (2011) em um levantamento sobre as dermatopatias em cães atendidos no Hospital Veterinário (HV) da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Bandeirantes-PR, constatou que 17,5% dos atendimento dermatológicos foram decorrentes de otite externa, sendo 60% dos casos causados por infecção bacteriana, 24% por fungos e 16% mistas (bactérias e fungos). Nos casos atendidos em Matipó, na maioria das vezes o diagnóstico foi baseado apenas no histórico e nos sinais clínicos, não sendo realizado o diagnóstico laboratorial, impossibilitando determinar os agentes predominantes nas otites.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo a otite externa como uma afecção relativamente comum na clínica de pequenos animais, o diagnóstico e o tratamento tornam-se importantes para que não se tornem quadros crônicos. Ressaltando a importância da anamnese, exame físicos e complementares, para a identificação do agente causador e determinação de um

tratamento mais correto. É importante também conscientizar o proprietário quanto à correta conduta no tratamento para obter sucesso.



REFERÊNCIAS :

CARDOSO, M.J.L.; *et al.* Dermatopatias em cães: revisão de 257 casos. **Archives of Veterinary Science**, v.16, n.2, p.66-74, 2011.

ETTINGER, STEPHEN J.; EDWARD C. FELDMAN. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato**. 5 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

FEITOSA, FRANCISCO LEYDSON F. **Semiologia Veterinária: A arte do diagnóstico**. GIUFRIDA, LUIZ ARTHUR.; LUCAS, RONALDO. Segunda edição São Paulo: Roca, 2008. P.613-622.

HNILICA, KEITH A. **Dermatologia de Pequenos Animais : Atlas Colorido e Guia Terapêutico** / Keith A. Hnilica ; [tradução Aline Santana da Hora... et al.]. 3.ed.- Rio de Janeiro : Elsevier, 2012. p.141.

LEITE, C. A. L. Retirada de pêlos intra-auriculares e sua relação com a otite e externa em cães. Boletim Informativo, ANCLIVEPA-SP, n. 41, p. 12-16, 2005.

LOUREIRO, G.J.S. **Otite externa em pequenos animais**, 2006, 51p. Monografia/Especialização, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Castelo Branco, Campo Grande, MS.

MACHADO, M. L. S.; APPELT, C. E.; FERREIRO, L.; GUILLOT, J. Otites e dermatites por *Malassezia* spp. em cães e gatos. **Clínica Veterinária**, n. 44, 2003.

MARTINS, A.E; *et al.* Estudo clínico e microbiológico de otite externa de cães atendidos no hospital veterinário do noroeste Paulista. **Acta Veterinária Brasileira**, v.5, n.1, p.61-67, 2011.

MARTINUZZI, P.A, VIANA, A.N; KUSSELER, A; SILVA, A. A. **Presença de pólipos no ouvido externo de canino com otite crônica relato de caso**. XVI seminário institucional de ensino, pesquisa e extensão, Unicruz, out, 2011.

MEGIDE, JANE; *et al.* Otite Canina: Etiologia, sensibilidade antibiótica e suscetibilidade animal. **Seminário**, v.11, n.1, p.45-48, 1990

MOTA, R.A.; *et al.* Eficácia do Otomax no tratamento da otite bacteriana e fúngica em cães. **A Hora Veterinária**, v.19, n.113, 2000.

NASCENTE, P. da S. *et al.* Malasseziose ótica canina: inoculação experimental e tratamento. **Clínica Veterinária**, n.55, p.54-60, 2005.

NASCENTE, P.S; *et al.* Estudo da frequência de *Malassezia pachydermatis* em cães com otite externa no Rio Grande do Sul. **Ciencia Animal Brasileira**, v.11, n.3, p.527-536, 2010.

NASCIMENTO, M.J. Epidemiologia de *Otodectes cynotis* (ACARI: sarcoptiformes) e sua associação com a infecção por *Malassezia pachydermatis* (cryptococcales: cryptococcaceae) no canal auditivo externo de cães naturalmente infestados. Botucatu, 2007, 37p. Dissertação/mestrado. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Campus De Botucatu



NOBRE, M.O. *et al.* *Malassezia pachydermatis* e outros agentes infecciosos nas otites externas e dermatites em cães. **Ciência Rural**. v.28, n.3, p.447-452, 1998.

OLIVEIRA, L.C; *et al.* Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otite externa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**; v.57, n.3, p.405-408, 2005.

OLIVEIRA; L.C *et al.* Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associados, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**; v.58,n.6, p.1009 -1017, 2006.

PATEL, A. e FORSYTHE, P. **Dermatologia em pequenos animais; Clínica Veterinária na Prática**. [Tradução Marcelo de Souza, ET AL] Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.322-330.

PENA S.B. **Frequência de dermatopatias infecciosas, parasitárias e neoplásicas em cães na região de garça, São Paulo - Brasil**. Dissertação (Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2007. 67p. (Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2007/pena_sb_me_botfmvz.pdf>).

RADOSTITS, OTO M.; MAYHEW, I.G.JOE.; HOWSTON,DOREEN M.; **Exame clínico e diagnóstico em Veterinária**. 1ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

REOLON, M. *et al.* Otite por *Malassezia* em cão- Relato de Caso- **XVI Seminário Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão** – UNICRUZ, RS, 2011. Disponível em: <http://www.unicruz.edu.br/seminario/artigos/saude/OTITE%20POR%20MALASSEZIA%20EM%20CÃO%20-%20RELATO%20DE%20CASO.pdf>. Acessado em setembro de 2014.

SANTOS, R.L.; ALESSI, A.C. **Patologia Veterinária**. Ed. Roca, São Paulo, 2010. 891p.

SILVEIRA, A.C.P. *et al.* Flora bacteriana aeróbia em otites caninas Aerobic bacterial flora of the canine otitis. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.103, p.171-175, 2008.

TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO COM LOCALIZAÇÃO CONJUNTIVAL E METÁSTASE CUTÂNEA, HEPÁTICA E ESPLÊNICA: RELATO DE CASO

Acadêmicos: Deyvid Lopes De Souza

Luciana Tobias Correia

Orientador: Vanessa Guedes Pereira

RESUMO

Relata-se neste trabalho a ocorrência de um tumor venéreo transmissível extragenital, com localização primária na conjuntiva palpebral em um cão macho, de 12 anos de idade, atendido no Hospital Veterinário Escola Gardingo. O animal apresentou inicialmente histórico de uma massa friável e sanguinolenta na conjuntiva do olho direito, sendo indicado o procedimento cirúrgico de biópsia excisional. O material coletado foi para o exame histopatológico, sendo confirmado o diagnóstico de TVT. A massa apresentou recidiva no mesmo local 27 dias após a cirurgia. O proprietário do cão foi orientado da necessidade de iniciar a quimioterapia, mas negou o procedimento. O animal retornou ao Hospital Veterinário 54 dias depois, apresentando recidiva da massa na conjuntiva do olho direito, além de 4 nódulos cutâneos disseminados, que foram confirmados como TVT. Nesta ocasião, optou-se pela quimioterapia com sulfato de vincristina. No retorno para a segunda sessão de quimioterapia, sete dias depois, foi realizado exame radiográfico e ultrassonografia abdominal. Os resultados desses exames evidenciaram alterações no fígado e no baço, sugestivas de metástases. Devido ao quadro clínico do animal, o proprietário optou pela eutanásia. A necropsia numerosos nódulos no fígado e no baço, que também foram confirmados como TVT.

PALAVRAS-CHAVE: TVT; ocular; tumor; metástase.

INTRODUÇÃO

O tumor venéreo transmissível (TVT) é uma neoplasia comum que afeta os cães e é transmitida por implantação de células neoplásicas por meio da cópula, lambeduras, ou por interação entre um animal infectado e outro susceptível, ou ainda por transplantes experimentais (SANTOS *et al.*, 2005; TINUCCI-COSTA, 2008). Geralmente se localiza nos órgãos genitais externos dos cães. Todavia, a sua implantação em áreas extragenitais como linfonodos, baço, pele, ânus, mucosa oral, mucosa nasal, bulbo ocular, dentre outros locais (GINEL *et al.*, 1995). As metástases em locais extracutâneos geralmente não são comuns e correspondem a cerca de 1% dos casos de TVT (TINUCCI-COSTA, 2008).

No caso de ocorrência extragenital ou metastática, os sinais clínicos estão relacionados de acordo com o órgão afetado (NAYAK e SAMADDAR, 1988; MOZOS *et al.*, 1996). Ao atingir o olho, podem ocorrer quemose, episclerite, uveíte grave, edema da córnea e glaucoma (PEREIRA *et al.*, 2000).

Nos achados citopatológicos o TVT é descrito como células redondas, com bordas citoplasmáticas delimitadas, núcleo oval ou redondo, cromatina granular, nucléolos proeminentes e alta relação núcleo: citoplasma, com citoplasma discretamente basofílico e múltiplos vacúolos, além de anisocitose, anisocariose, basofilia citoplasmática, hiper Cromasia nuclear e macrocariose (MOYA *et al.*, 2005).



Contudo, o objetivo deste trabalho é relatar um caso clínico de TVT conjuntival no olho direito, em um cão macho, sem raça definida (SRD), de 12 anos de idade, atendido no Hospital Veterinário Escola Gardingo, em Matipó, Minas Gerais, que apresentou metástase cutânea e em fígado e baço, abordando os sinais clínicos apresentados, o diagnóstico e tratamento preconizado.

Por ser o tumor venéreo transmissível (TVT) uma das neoplasias que mais acomete os cães e sendo a ocorrência extragenital e metastática pouco comum, relatos como este se fazem necessários para melhor esclarecimento sobre a doença, sua evolução e possível ocorrência de metástases, além das possíveis técnicas de diagnóstico e tratamento.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) dos cães foi mencionado inicialmente por Huzzard em 1820 e descrito em 1828 por Delabere-Blaine, mas foi Sticker em 1905 a 1906 quem descreveu de forma detalhada esta neoplasia, caracterizando-a como um sarcoma ou linfossarcoma, sendo por muitos anos chamado de tumor de Sticker (TINUCCI-COSTA, 2008). É uma neoplasia geralmente localizada na genitália externa de ambos os sexos e raramente sofre metástase para locais extracutâneos (McGAVIN e ZACHARY, 2009), o qual representa apenas 1% dos casos, podendo ser observadas na pele, tecido subcutâneo, mucosa oral e nasal, linfonodos, cavidade craniana, hipófise, fígado, rins, pleura, mesentério, baço e olhos (PARK *et al.*, 2006; TINUCCI-COSTA, 2008).

O TVT possui distribuição mundial, sendo de maior ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais, representando uma das neoplasias mais frequentes no Brasil (GASPAR, 2005; SANTOS *et al.*, 2005). A incidência é mais alta nos países onde a população de cães não segue um controle epidemiológico e são mais ativos sexualmente (MOYA *et al.*, 2005). É uma neoplasia alogênica transmitida por células vivas, não requerendo a transformação pelo hospedeiro (SANTOS *et al.*, 2005), que

pode ser observada em machos e fêmeas (AMARAL *et al.*, 2012). A célula de origem provém do sistema monócito-macrófago (BIRCHARD e SHERDING, 2008).



A transmissão ocorre pela implantação direta de células tumorais durante o coito, mordedura, lambeduras e arranhões (MOYA *et al.*, 2005). Os animais jovens, sexualmente ativos, que perambulam pelas ruas sem um controle por parte dos seus proprietários são os mais susceptíveis à doença (SORRIBAS, 2009).

Geralmente, as lesões neoplásicas surgem como pequenas áreas elevadas e hiperêmicas, que podem atingir 5 cm de diâmetro ou mais, com a progressão da doença, apresentando um aspecto de couve-flor, friável e que sangra facilmente (NELSON e COUTO, 2010). Quando o acometimento é ocular, podem ocorrer alterações secundárias, como glaucoma e inflamação, podendo causar até a perda do olho (CONCEIÇÃO *et al.*, 2010). Quando acomete a pele, pode apresentar nódulos isolados ou múltiplos, com ou sem ulceração, de vários tamanhos, de coloração esbranquiçada, cinza ou rósea, e no centro podem ocorrer infecções secundárias, muitas das vezes associadas a exsudato purulento com presença de míases (MOYA *et al.*, 2005)

O diagnóstico é confirmado com base na anamnese, exame físico e exames citológicos (MOYA *et al.*, 2005), podendo se utilizar a impressão sobre lâmina de microscopia (“imprint”) e citologia de aspiração por agulha fina, sendo métodos simples e de rápida execução, além de apresentarem baixo custo. O TVT também pode ser diagnosticado através de exame histopatológico, após biópsia incisional (TINUCCI-COSTA, 2008). O exame de imunoistoquímica também é um método de diagnóstico complementar, que em muitas das vezes contribui fundamentalmente para as condutas cirúrgicas e terapêuticas. O mecanismo básico dessa técnica é o reconhecimento do antígeno por um anticorpo (WERNER *et al.*, 2005). Embora a histogênese do TVT ainda seja controversa, a mais aceita até o momento é que este tumor seja de origem histiocitária, sendo a vimentina, a alfa 1-tripsina e a lisozima os marcadores que podem ser expressos pelas células dessa neoplasia no exame de imunoistoquímica (CRUZ *et al.*, 2009).

O exame citológico revela células que variam de redondas a ovais, com núcleo redondo, que possuem quantidade moderada de citoplasma levemente azulado e com limites citoplasmáticos bem definidos. Uma característica marcante das células do TVT, importante na diferenciação de outros tumores de células redondas, é a presença de vários vacúolos citoplasmáticos bem evidentes. Esses vacúolos

também podem ser encontrados extracelularmente, apresentando-se como áreas claras sobre um fundo proteico de fluido tecidual. Os núcleos apresentam de moderada a acentuada anisocariose e apresentam cromatina nuclear de padrão grosseiro. Os nucléolos são evidentes e as figuras de mitose são comuns. As células do TVT são tipicamente as mais pleomórficas de todos os tumores de células redondas (COUWELL *et al.*, 2009).



Atualmente, o TVT é classificado como padrão plasmocitoide, linfocitoide, ou misto, quando a maioria das células que compõem o parênquima tumoral se mostra de aspecto semelhante a plasmócitos e linfócitos, ou uma mistura entre esses dois padrões, respectivamente. Os tumores de padrão linfocitoide são os mais frequentes e os de padrão plasmocitoide mais malignos, o qual é visto na maioria dos tumores não primários (TINUCCI-COSTA, 2008). O diagnóstico diferencial, principalmente em animais sem lesões genitais, inclui outros tumores de células redondas, como o mastocitoma, histiocitoma e o linfoma (NELSON e COUTO, 2010).

Dentre as condutas terapêuticas preconizadas para o tratamento de TVT, estão a criocirurgia (ROGERS, 1998), radioterapia, ressecção cirúrgica, quimioterapia (BIRCHARD e SHERDING, 2008; TINUCCI-COSTA, 2008) e imunoterapia (TINUCCI-COSTA, 2008).

A quimioterapia é o tratamento de escolha para o TVT múltiplo ou metastático. Protocolo com antineoplásico único ou uma combinação de quimioterápicos é efetivo no tratamento deste tumor (ETTINGER e FELDMAN, 2004). A vincristina é um alcaloide da vinca, de origem das plantas do gênero *Vinca* (MADDISON *et al.*, 2010), que é o antineoplásico mais utilizado na medicina veterinária, sendo de escolha para o tratamento de TVT, utilizado na dose de 0,5-0,7 mg/m² por via intravenosa, semanalmente, até no mínimo uma semana após a cura do tumor (ETTINGER e FELDMAN, 2004). Este fármaco se liga na proteína e em outros elementos sanguíneos como as plaquetas, o que impede que ocorra a passagem pela barreira hematoencefálica, sendo metabolizado por enzimas do citocromo P-450 e excretado pelas vias biliares (SPINOSA *et al.*, 2011). É visto como um medicamento específico com atividade na fase M do ciclo celular, onde a formação do eixo mitótico é bloqueada, o que causa um acúmulo de células em mitose, bloqueando a divisão celular. Também se liga aos dímeros alfa/beta-tubulina, prevenindo sua polimerização e, assim, bloqueando a formação dos microtúbulos (MADDILSON *et al.*, 2010). O tempo total de tratamento usualmente é de 4 a 6 semanas (NELSON e

COUTO, 2010). A utilização da vincristina resulta em cura de 90% dos casos (ETTINGER e FELDMAN, 2004; MADDILSON *et al.*, 2010), no entanto, o uso dessa medicação pode levar a alopecia, alterações gastrointestinais, como constipação e dor abdominal e, menos frequentemente, diarreia, náuseas e vômitos (SPINOSA *et al.*, 2011).

Ainda como alternativas para quimioterapia antineoplásica, podem ser utilizados fármacos como ciclofosfamida (HOQUE *et al.*, 1993), doxorrubicina, sulfato de vimblastina e metrotexato (SINGH *et al.*, 1996). Muitos desses fármacos podem ser utilizados quando se pretende reduzir o tamanho do tumor para posteriormente submetê-lo à exérese cirúrgica. Segundo Tinucci-Costa (2008), a doxorrubicina na dose de 30mg/m² por via intravenosa, a cada 21 dias, pode ser administrada para se tratar casos de TVT resistentes à vincristina. Esse antineoplásico, derivado do *Streptomyces spp.* (MADDILSON *et al.*, 2010), pertencente à classe das antraciclinas, atua na inibição da enzima topoisomerase, responsável pela quebra do filamento único ou duplo de DNA e reparação do mesmo após o dano da espiral. Quando esse fármaco é usado, ocorre uma inibição da reparação desse filamento de DNA. O consequente acúmulo de DNA danificado provoca bloqueio da divisão celular e morte celular programada (SLATTER, 2007). No entanto, este medicamento deve ser usado com cautela devido à ação de mielossupressão e da possibilidade de reação anafilática pela degranulação de mastócitos e a cardiotoxicidade induzida, devido à alta produção de radicais livres, que não serão totalmente degradados pelas enzimas da musculatura do coração, pois as mesmas se encontram em baixas concentrações, como a catalase, superóxido desmutase e glutathiona peroxidase (SPINOSA *et al.*, 2011).

A excisão cirúrgica é mais eficaz em animais com lesões pequenas, circunscritas, de fácil acesso e sem metástases (DAS e DAS, 2000), que pode resultar em um controle a longo prazo, embora seja um procedimento que possui índices relativamente altos de recidivas (NELSON e COUTO, 2010). Dentre esses procedimentos, pode-se incluir também a eletrocirurgia, caso o tumor seja adequado para ressecção, sendo mais efetivo do que o procedimento convencional (DAS e DAS, 2000).

A criocirurgia também pode ser usada para remover pequenos tumores, que tem como vantagem a rapidez, com uso de anestesia local na maioria dos casos e índices bastante satisfatórios de cura (EURIDES *et al.*, 2008).



A radioterapia pode ser útil quando não for possível a remissão completa do tumor utilizando os outros meios de tratamento. Os tumores venéreos transmissíveis são os mais radiosensíveis de todos os tumores, sendo assim, a radioterapia é um tratamento de escolha para os tumores bastante extensos e localizados (HOBSON, 1996).

A imunoterapia se baseia na utilização direta ou indireta do sistema imunológico do animal portador, com a finalidade de combater o câncer. A imunoterapia pode ser específica, quando for produzido contra um antígeno específico, ou inespecífica. É também conhecida como terapia biológica, bioterapia e terapia com modificadores da resposta biológica. Imunoterapia inespecífica com o bacilo Calmette-Guérin (BCG), na dose de 2 a 8 x 10⁸ bacilos viáveis, diluídos em solução fisiológica e aplicados por via intralesional, três vezes por semana, ou a vacina BCG, por via intralesional, podem ser usados no tratamento de TVT (TINUCCI-COSTA, 2008).

RELATO DE CASO

No dia 30/06/2014 foi atendido no Hospital Veterinário Escola Gardingo, um cão macho, sem raça definida (SRD), de 12 anos de idade, domiciliado, com peso de 9,5 kg, apresentando massa conjuntival no bulbo ocular direito, de crescimento progressivo há cerca de dois meses.

Ao exame físico o paciente apresentou mucosas normocoradas, tempo de perfusão capilar (TPC) menor que dois segundos, temperatura corporal de 39,2°C, grau de desidratação menor que 5% e não foram observadas alterações nos linfonodos regionais. No exame cardiopulmonar não foram detectados murmúrios patológicos, a frequência cardíaca auscultada foi de 130 bpm e a frequência respiratória ofegante, com pulso forte e regular. Na palpação abdominal e musculoesquelética não foram encontradas alterações.

No exame oftálmico foi observada uma massa com cerca de 5 cm de diâmetro na conjuntiva do olho direito, friável e sanguinolenta, recobrando todo o bulbo ocular do animal (FIGURA 1).

Diante dos sinais clínicos apresentados, suspeitou-se de neoplasia conjuntival, sendo, então, indicada a biópsia excisional. Foram realizados hemograma e exame bioquímico, incluindo dosagem de ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT)

e fosfatase alcalina (FA), não sendo encontrada nenhuma anormalidade. Sendo assim, o animal foi encaminhado para cirurgia.



No dia 01/07/14 o animal foi submetido a biópsia excisional da massa na conjuntiva bulbar e palpebral e à blefaroplastia (FIGURA 2). Foi prescrito como medicações pós-cirúrgica, Cefalexina na dose de 30mg/kg a cada 12 horas por 15 dias, Meloxicam na dose de 0,2 mg/kg a cada 24 horas por 3 dias e Tobramicina colírio 1 gota no olho direito a cada 6 horas até novas recomendações.

Solicitou-se exame histopatológico do tecido proveniente da biópsia excisional da massa ulcerada presente no ângulo palpebral lateral da conjuntiva palpebral e bulbar do olho direito, medindo 7,5 X 5,5 cm.

No dia 08/07/2014 o animal retornou ao Hospital Veterinário para reavaliação do olho direito. O proprietário relatou melhora e estava realizando toda medicação prescrita. Foi observada secreção purulenta no ângulo medial do olho direito, sendo o mesmo limpo com solução fisiológica e retirados os pontos da pálpebra inferior.

No dia 28/07/2014 o animal retornou ao Hospital Veterinário apresentando epífora e nódulo na conjuntiva palpebral do olho direito. Foi recomendado ao proprietário aguardar o resultado do exame histopatológico para a prescrição do tratamento.

O resultado do histopatológico descreveu macroscopicamente o nódulo como sendo um conteúdo de pálpebra mal delimitado, irregular, firme e acinzentado, sendo sólido e esbranquiçado ao corte. Microscopicamente foram observados nódulos de proliferação neoplásica na submucosa da conjuntiva palpebral, mal delimitados, expansivos e infiltrativos, constituídos por células redondas justapostas, organizadas em manto e cordões, sustentado por finos feixes de tecido conjuntivo fibroso. Estas células possuíam moderado citoplasma eosinofílico vacuolizado, com limites indistintos e núcleo arredondado com cromatina frouxa, com 1 a 2 nucléolos evidentes. A anisocariose foi moderada e o índice mitótico foi alto, com mitoses atípicas, o que confirmou a neoplasia como TVT. Foi relatado no diagnóstico final que as células neoplásicas não ultrapassaram os limites dos fragmentos, porém encontraram-se muito próximas do tecido analisado, podendo ocorrer recidivas, o que justifica o reaparecimento da massa 27 dias após a cirurgia de biópsia excisional.

Após o resultado do exame histopatológico, foi realizado o contato com o proprietário sobre o diagnóstico de TVT, informando sobre a necessidade de iniciar a quimioterapia, mas este se negou a iniciar o tratamento.



No dia 22/09/2014 o animal retornou ao Hospital Veterinário para iniciar a primeira sessão de quimioterapia. Ao exame físico, notou-se um nódulo com cerca de 5 cm de diâmetro, firme, regular, aderido na pele, próximo ao pavilhão auricular direito (FIGURA 3); um nódulo de mais ou menos 4 cm de diâmetro, firme, regular, aderido na pele, no lado esquerdo do tórax (FIGURA 4); um nódulo ulcerado de mais ou menos 2 x 3 cm, na região ventral do abdômen, próximo ao prepúcio (FIGURA 5); um nódulo de mais ou menos 5 x 2 cm, ulcerado, firme, regular, aderido na pele, na base da cauda (FIGURA 6), além de uma massa friável, altamente vascularizada, eritematosa, com aspecto vegetativo, de mais ou menos 2 x 4 cm na conjuntiva palpebral inferior do olho direito e outra de mais ou menos 0,3 x 2 cm na conjuntiva palpebral superior do olho direito (FIGURA 7). Foi realizada a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) nos nódulos cutâneos para a realização da citologia, o que confirmou metástase cutânea do tumor venéreo transmissível (FIGURA 8). O proprietário foi orientado a respeito da doença e foi coletado sangue para realização de hemograma, demonstrando-se apenas hemácias acima do normal, devido a uma desidratação, iniciando-se assim a primeira sessão de quimioterapia do animal com Vincristina na dose de 0,5 mg/m² intravenoso.

No dia 29/09/2014 o animal retornou para a segunda sessão de quimioterapia. No exame físico foi observada discreta redução dos nódulos, no entanto, o animal apresentava-se ofegante, com distensão abdominal e presença de estrutura firme a palpação na região epigástrica e mesogástrica, apresentando dor à palpação abdominal, sendo então realizado exame radiográfico e ultrassonografia abdominal, para verificar a ocorrência de metástase nos órgãos abdominais. No exame radiográfico foram observadas hepatomegalia e esplenomegalia e, no exame ultrassonográfico, a presença de estruturas anecoicas no fígado e baço, sugestivo de metástases do TVT também nesses órgãos. Coletou-se sangue para hemograma, perfil renal e hepático, demonstrando-se alteração apenas nas enzimas alanina aminotransferase (628U/L) e fosfatase alcalina (1022 U/L), estando acima dos valores de referência, sendo considerado de 10-88 U/L o valor normal de alanina aminotransferase e de 20-150 U/L para fosfatase alcalina.

Foi explicada a situação do animal para o proprietário e o mesmo decidiu não prosseguir com o tratamento. Optou-se, assim, pela eutanásia do animal, sendo o mesmo encaminhado para necropsia.

No dia 02/10/2014 foi realizada a necropsia do animal, sendo notado fígado e baço com alterações. O fígado apresentava aumento de volume, com presença de nódulos de coloração rósea, de tamanhos variados, com aspecto vegetativo, sanguinolento, localizados por toda estrutura do fígado (FIGURA 9). O baço apresentava grande número de nódulos, com tamanhos variados, de superfície lisa, circulares, regulares, de coloração avermelhada (FIGURA 10). Foi realizada a punção aspirativa com agulha fina nos nódulos para avaliação citológica, a qual confirmou a presença de tumor venéreo transmissível em ambos os órgãos (FIGURA 11).



Figura 1: Nódulo com cerca de 5 cm de diâmetro na conjuntiva do olho direito, friável e sanguinolento.



Figura 2: Olho do cão após o procedimento cirúrgico de biópsia excisional e blefaroplastia.



Figura 3: Nódulo de mais ou menos 5 cm de diâmetro, firme, regular, aderido na pele, próximo ao pavilhão auricular direito.



Figura 4: Nódulo de mais ou menos 4 cm de diâmetro, firme, regular, aderido na pele, no lado esquerdo do tórax.



Figura 5: Animal em decúbito dorsal. Nota-se um nódulo ulcerado, de mais ou menos 2 x 3 cm na região ventral do abdômen, próximo ao prepúcio.



Figura 6: Nódulo de mais ou menos 5 x 2 cm, ulcerado, firme, regular, aderido na pele, na base da cauda.



Figura 7: Massa friável, altamente vascularizada, eritematosa, de aspecto vegetativo na conjuntiva palpebral superior e inferior.

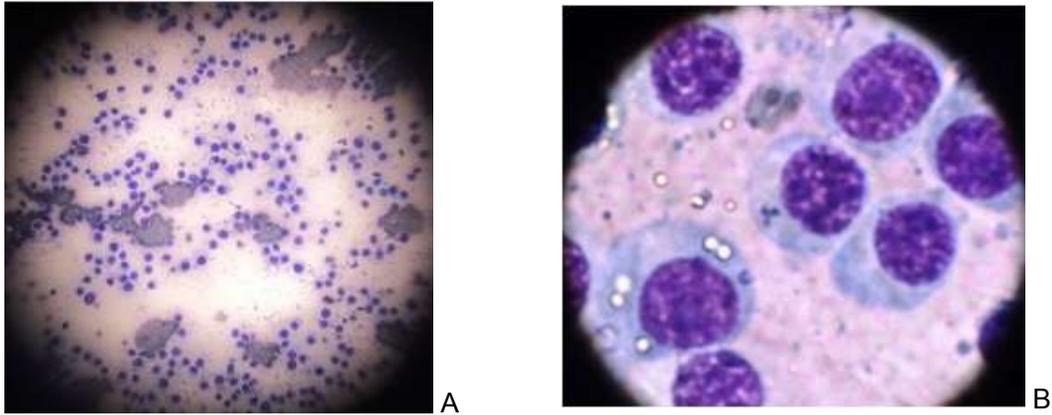


Figura 8 A: Citologia do nódulo cutâneo da base da cauda no aumento de 100x, mostrando numerosas células redondas, com boa delimitação núcleo-citoplasma. **B:** Citologia do nódulo cutâneo da base da cauda no aumento de 1000x, apresentando células de formato arredondado e oval, do tipo plasmocitoide, com boa delimitação núcleo-citoplasma, presença de vacúolos citoplasmáticos, cromatina grosseira e nucléolos evidentes em algumas células.

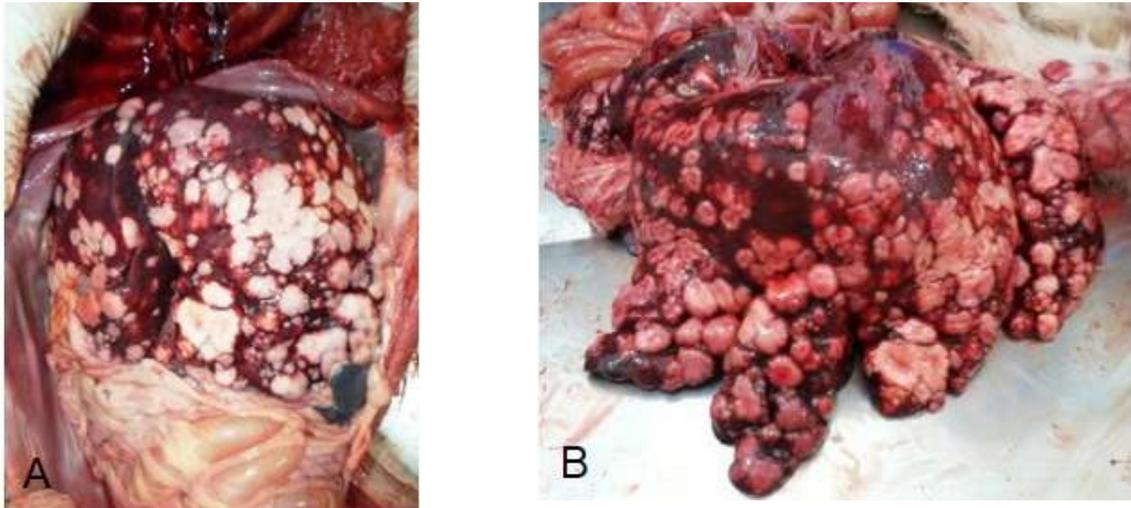


Figura 9 A e B: Observa-se hepatomegalia e presença de nódulos de coloração rósea, de tamanhos variados, com aspecto vegetativo, sanguinolentos e difusos no fígado.



Figura 10: Baço com nódulos com tamanhos variados, de superfície lisa, circulares, regulares e coloração avermelhada.

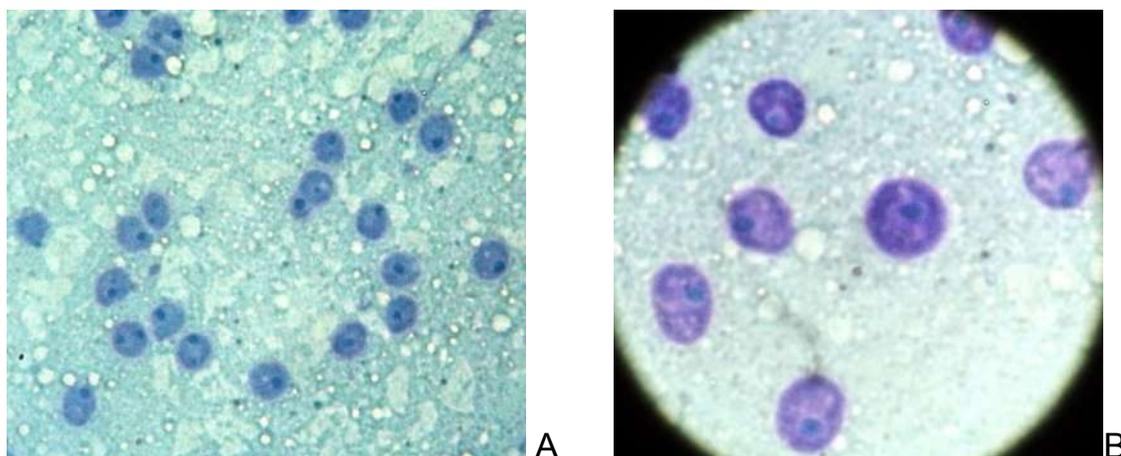


Figura 11 A: Citologia de nódulos do baço no aumento de 400x, mostrando células redondas e ovais, com citoplasmas que não estão evidentes, mas percebem-se numerosos vacúolos citoplasmáticos e nucléolos bem evidentes. **B:** Citologia de nódulos do fígado no aumento de 1000x, mostrando células redondas e ovais, com nucléolos e cromatinas evidentes, sem a limitação núcleo-citoplasmas bem clara, porém podem se observar os vacúolos citoplasmáticos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O TVT extragenital de localização na conjuntiva bulbar e palpebral, pele, fígado e baço, como o verificado no presente relato, é incomum, visto que, segundo Tinucci-Costa (2008), metástases como estas representam 1% dos casos de tumor venéreo transmissível. A característica da massa tumoral na conjuntiva do olho direito no presente relato, foi a mesma descrita por Pigatto *et al.* (2011). Essa localização ocular primária, pode ter ocorrido por uma auto implantação comum, quando o animal cheira, lambe ou encosta na região afetada de um outro animal portador.

Como ocorrido, a massa no olho direito teve recidiva 27 dias após o procedimento cirúrgico, o que era uma possibilidade, visto que a cirurgia para retirada de TVT tem grandes taxas de recidivas (NELSON e COUTO, 2010). No entanto, a cirurgia é uma opção de tratamento principalmente quando a massa é pequena, de fácil acesso e sem metástase, confirmando as descrições de Das e Das (2000). Os achados histopatológicos da massa neoplásica neste relato são condizentes com aqueles descritos por Amaral *et al.* (2012).

Os primeiros exames laboratoriais não demonstraram alterações no hemograma, função renal e hepática, o mesmo descrito foi por Amaral *et al.* (2012), comprovando que não havia comprometimento renal ou hepático, tendo o tumor neste presente relato, ocorrido inicialmente no olho e que provavelmente sofreu metástase para pele e órgãos internos por via hematogena ou linfática, corroborando com as descrições de Batista *et al.* (2007).

A ocorrência de metástases está relacionada com animais não tratados e pela permanência do tumor por mais de dois meses (LOPES, 2014), o que pode ser percebido neste trabalho, devido ao fato do animal ter apresentado inicialmente o TVT na conjuntiva palpebral do olho direito, sendo iniciada a quimioterapia somente dois meses após o diagnóstico da doença, corroborando com as descrições de Paula *et al.* (1997).

A metástase na pele pode apresentar-se de diversas formas, desde verrucosas a nodulares ulcerativas (LIMA *et al.*, 2013). No presente relato, o animal apresentou tanto nódulos ulcerados como nódulos sem ulcerações, o mesmo descrito por Santos *et al.* (2008), que relatam nódulos de consistência firme, pendulosos, móveis no subcutâneo, não ulcerados e alguns ulcerados.

Na citologia dos nódulos cutâneos, as células encontradas foram do tipo plasmocitoide, corroborando com Amaral *et al.* (2004), que descrevem esses tipos celulares como os mais encontrados em TVT extragenital, sendo os mais malignos e com menor resposta ao agente quimioterápico (TINUCCI-COSTA, 2008).

A radiografia e ultrassonografia são exames importantes para pesquisa de metástases no pulmão e em órgãos abdominais (SORRIBAS, 2009), o que foi realizado neste relato, não encontrando alterações nos pulmões, apenas em fígado e baço.

Os nódulos encontrados no baço apresentam características semelhantes as descrita por Batista *et al.* (2007), que encontraram múltiplos nódulos arredondados, de superfície lisa, avermelhados. Nódulos no baço podem indicar metástase do tumor primário conjuntival, devido à impossibilidade de contato direto do tumor com um órgão de localização intracavitário.

O sulfato de vincristina ainda é o quimioterápico de escolha para o tratamento de TVT, o que resulta na cura de 90% dos casos (NELSON e COUTO, 2010). Entretanto, fatores relacionados à localização extragenital têm atribuído a esta neoplasia característica de resistência a agentes quimioterápicos usados em seu

tratamento (TINUCCI-COSTA, 2008). Por isso, quando se tem acometimento extragenital, em muitas vezes se faz necessária a associação com outros fármacos, para aumentar a eficácia contra as células neoplásicas. No presente relato, uma única sessão de quimioterapia com vincristina não foi suficiente para o tratamento do animal, que apresentou piora do quadro e metástases no fígado e baço. A associação de quimioterápicos não foi realizada, uma vez que o proprietário optou pela eutanásia do animal.

O TVT apresenta bom prognóstico, pois a maioria dos quimioterápicos utilizados para o tratamento desta neoplasia proporciona a cura na maioria dos casos. Entretanto, quando se tem um acometimento extragenital, como no fígado, pele, baço, pulmão, olho e cérebro, o prognóstico acaba sendo pior, por diminuir a qualidade de vida e comprometer as funções vitais do organismo (BATISTA et al., 2007)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os sinais clínicos e os exames complementares realizados neste trabalho, pode-se concluir que o animal apresentou tumor venéreo transmissível (TVT) de rara ocorrência extragenital, sendo de origem primária na conjuntiva bulbar e palpebral, com posterior metástase para pele, fígado e baço.

O início tardio do tratamento e o acometimento extragenital do tumor pode ter sido a causa da ocorrência de metástases, acometendo órgãos importantes, como fígado e baço, agravando o quadro clínico do animal. Por isso, o diagnóstico e tratamento precoce da doença são de extrema importância, principalmente em casos como o deste relato, de tumor venéreo transmissível do tipo plasmocitoide, potencialmente maligno.

REFERÊNCIAS

AMARAL, A. S. *et al.* Diagnóstico citológico do tumor venéreo transmissível na região de Botucatu, Brasil (estudo descritivo: 1994-2003). **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.99, n.551, p.167-171, 2004.

AMARAL, A. V. C. *et al.* Tumor venéreo transmissível intra-ocular em cão – Relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, n.1, p.79-85, 2012.

BATISTA, J. S. *et al.* Tumor venéreo transmissível canino com localização intra-ocular e metástase no baço. **Acta Veterinária Brasileira**, v.1, n.1, p.45-48, 2007.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders – Clínica de Pequenos Animais**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2008.

CONCEIÇÃO, L. F. *et al.* Considerations about ocular neoplasia of dogs and cats. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2235-2242, 2010.

COUWELL, R. L. *et al.* **Diagnóstico citológico e hematologia em cães e gatos**. 3 ed. São Paulo: MedVet, 2009.

CRUZ, G. D. *et al.* Metástase visceral de tumor venéreo transmissível em cão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 3, p. 465-470, 2009.

DAS, U.; DAS, A. K. Review of canine transmissible venereal sarcoma. **Journal Veterinary Research Communications**, v. 24, n. 8, p. 545-556, 2000.

EURIDES, D. *et al.* Criocirurgia. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2008.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária - doenças do cão e do gato**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

GASPAR, L. F. J. **Caraterização citomorfológica do tumor venéreo transmissível canino correlacionada com danos citogenéticos, taxa de proliferação e resposta química à quimioterapia**. 2005. 143 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Clínica Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, São Paulo, 2005.

GINEL, P. J. *et al.* Primary transmissible venereal tumor in the nasal cavity of a dog. **Vet Rec**, v. 136, p. 222-223, 1995.

HOBSON, H. P. Fisiopatologia cirúrgica do pênis. In: BOJRAD, M. J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia de pequenos animais**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1996.

HOQUE, M. *et al.* Efficacy of vincristine in management of canine transmissible venereal tumour. **Indian Journal of Veterinary Medicine**, v.13, n. 2, p.69, 1993.

LIMA, T. B. *et al.* Apresentação atípica de tumor venéreo transmissível cutâneo em um cão. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, n.1, p.57-61, 2013.

LOPES, D. J. *et al.* **Tumor venéreo transmissível canino com ocorrência de metástase no fígado – relato de caso**. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/555.pdf>> Acesso em: 26 de Setembro de 2014.

McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

MADDILSON, J. E. *et al.* **Farmacologia clínica de pequenos animais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

MOZOS, E. *et al.* Immunohistochemical characterization of canine transmissible venereal tumor. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 3, p. 257-263, 1996.



MOYA, C. F. *et al.* Tumor venéreo transmissível canino: revisão de literatura e descrição de caso clínico. **Medvep – Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 10, n. 3, p. 138-144, 2005.

NAYAK, N. C.; SAMADDAR, J. Extragenital transmissible venereal tumor in a bitch. **Indian Veterinary Journal**, Madras, v. 65, n. 6, p. 537-537, 1988.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

PARK, M. *et al.* Disseminated transmissible venereal tumor in a dog. **J Vet Diagn Invest**, v. 18, p. 130–133, 2006.

PAULA, L.F. *et al.* Metástase de Tumor Venéreo transmissível em fígado e baço. Relato de Caso. Dados Parciais. In: Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais, XIX, Curitiba, Paraná, 1997. **Anais**. Curitiba: Aclivepa, p.30, 1997.

PEREIRA, J. S. *et al.* Immunohistochemical characterization of intraocular metastasis of a canine transmissible venereal tumor. **Veterinary Ophthalmology**, Osney Mead, v. 3, n. 1, p. 43-47, 2000.

PIGATTO, J. A. T. *et al.* Transmissible venereal tumor in the palpebral conjunctiva of a dog: case report. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 1139-1144, 2011.

ROGERS, K. S. *et al.* Transmissible venereal tumor: a retrospective study of 29 cases. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.34, p.463-470, 1998.

SANTOS, F. G. A. *et al.* Tumor venéreo transmissível canino – Aspectos gerais e abordagens moleculares. **Biosci J**, v. 21, p. 41-53, 2005.

SANTOS, J. P. *et al.* Tumor venéreo transmissível em um canino com acometimento de pele. **Medicina Veterinária**, v.2, n.2, p.39-42, 2008.

SINGH, J. *et al.* Clinico-pathological studies on the effect of different anti-neoplastic chemotherapy regimens on transmissible venereal tumours in dogs. **Veterinary Research Communications**, v.20, n.1, p.71-81, 1996.

SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 3 ed. São Paulo: Manole, 2007.

SORRIBAS, C. E. **Emergências e afecções frequentes do aparelho reprodutor em cães**. 1 ed. São Paulo: MedVet, 2009.

SPINOSA, H. S. *et al.* **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

TINUCCI-COSTA, M. Tumor venéreo transmissível canino. In: DALECK, C. R; DE NARDI, A. B; RODASKI, S. **Oncologia em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2008.

WERNER, B. *et al.* Uso prático da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica. **Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 5, p. 353-64, 2005.

NATIMORTALIDADE NA SUINOCULTURA INDUSTRIAL

Acadêmica: Natália Mayrinck Cunha

Orientadora: Maria Aparecida Salles Franco

RESUMO

A natimortalidade tem impacto na produção de leitões com redução na possibilidade de produto terminado, é responsável por grande percentual de perdas no número de leitões viáveis por leitegada, somada às perdas na maternidade com as mortes pré-desmame. Este estudo de caso realizou a análise de dados de duas propriedades de mesmo dono que foram aqui tratadas de A, a mais antiga das duas que forneceu matrizes à segunda, aqui denominada B. Fazendo a análise quantitativa dos principais fatores que possibilitam este problema através de dados primários oriundos de anotações zootécnicas, realizadas com o máximo de confiabilidade, de forma digital no programa específico denominado AGRINESS - Gestão da Informação para a suinocultura, utilizado pelos técnicos e funcionários das granjas A e B. Para melhor entendimento sobre os fatores que causam a natimortalidade foi feita uma revisão bibliográfica sobre estes, bem como a classificação de natimortos, e o limite aceitável atual do índice zootécnico para natimortalidade. Ao final foi analisada as diferenças do índice entre as granjas através dos dados de 5 anos de anotações de 2010 à 2014. Concluiu-se sobre a existência ou não de diferenças significativas entre as granjas, sinalizando quais fatores mais contribuíram para a ocorrência de natimortalidade, apontando os possíveis impactos econômicos na rentabilidade por lote terminado.

PALAVRAS-CHAVE: natimortalidade, classificação, fatores de risco

INTRODUÇÃO

A produção tecnificada de suínos tem como principal objetivo um maior retorno econômico através da diminuição de custos de produção aliado ao aumento da produtividade. Um dos parâmetros mais utilizados e de maior importância na suinocultura moderna para mensurar produtividade é o número de leitões desmamados/fêmea/ano (DIAL *et al.*, 1992; MUIRHEAD & ALEXANDER, 1997). Alguns fatores contribuem significativamente para obtenção de um elevado número de desmamados e que podem influenciar desde o momento da cobertura (taxa de ovulação e fecundação), durante a gestação e parição (perdas embrionárias e fetais) e, finalmente durante a fase de aleitamento com a ocorrência das perdas na maternidade (nascidos mortos e mortalidade de leitões por causas específicas). O leitão natimorto (NAT) é aquele aparentemente normal, mas que morreu na proximidade ou na decorrência do parto (DIAL *et al.*, 1992). Existem características externas e apresenta alterações macroscópicas que permitem classificar esse leitão em três categorias diferentes: NAT pré-parto, NAT intra-parto e NAT pós-

nascimento. A classificação correta em cada categoria tem grande importância principalmente no momento da contabilização desses animais. Infelizmente na prática, raramente são feitos os procedimentos para identificação do tipo de natimorto. Desta forma, muitas vezes, os leitões são contabilizados de forma errônea, superestimando as taxas de mumificação ou subestimando as de mortalidade pré-desmame. Isso ocorre pela identificação equivocada do tipo de leitão nascido de uma determinada leitegada ou, até mesmo, sendo contabilizados nas fichas e gerando uma maior dificuldade no diagnóstico e controle do problema. A natimortalidade segue um caráter não formal, ou seja, a maioria das fêmeas não apresentam esse tipo de leitão ao parto (LUCIA *et al.*,1999). Porém, existem vários fatores de risco que podem contribuir para a sua ocorrência, como aqueles relacionados à fêmeas, à leitegadas, à nutrição, ao manejo, ao ambiente e até mesmo a ocorrência de doenças (CHRISTIANSON,1992; DIAL *et al.*,1992).

O presente trabalho teve como objetivo a identificação de causas de natimortalidade que geram números elevados e conseqüentemente perdas econômicas para o produtor, avaliar e criar um protocolo prático com as orientações de procedimentos corretos para minimizar a ocorrência de natimortalidade nas granjas estudadas. Para isso, foi realizado o correto diagnóstico do problema através do levantamento de dados confiáveis, partindo de avaliações qualitativas e quantitativas para a posterior elaboração de medidas a serem tomadas, baseadas nos fatores de risco presentes no cenário do estudo.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

CONFIABILIDADE DE DADOS COLETADOS

A produtividade na suinocultura é medida através dos índices de produção. Estes índices são obtidos através da coleta de dados dos registros contidos em programas informatizados de gerenciamento das granjas, normalmente provenientes das fichas preenchidas manualmente pelos funcionários que, ao longo do tempo, coletam dados dentro de cada setor que fazem parte no sistema (WENTZ *et al.*, 2008).

No passado, os produtores desenvolviam seus próprios métodos de registros. Atualmente, o acesso a programas informatizados de gerenciamento facilita a



avaliação da granja através da comparação com os alvos de produção preconizados tanto pela genética como pelos programas. Os sistemas de gerenciamento apresentam possibilidades muito rápidas e dinâmicas de interpretar, diagnosticar, prever e indicar possíveis ações em casos, por exemplo, de problemas reprodutivos (WENTZ *et al.*, 2008). Para tanto, a utilização deve ser correta e seguir as normas de uso, transmitindo confiabilidade dos dados ali registrados. Segundo Muirhead & Alexander (1997), a importância da confiabilidade dos dados se deve ao fato de que, na prática, a interpretação correta dos índices de produção constitui o primeiro aspecto a ser considerado em uma pesquisa técnica para que sejam desenvolvidas, se necessárias, estratégias adequadas ao manejo. (DIAL *et al.*, 1992; MUIRHEAD & ALEXANDER, 1997; LUCIA *et al.*, 1999). Esses índices estão sujeitos a apresentar falhas, uma vez que o “fator humano”, alicerçado muitas vezes por várias causas (falta de treinamento, baixo nível de escolaridade, desmotivação e desvalorização profissional, entre outros) cumpre o papel fundamental na obtenção dos resultados e na elaboração dos registros (SCHNEIDER *et al.*, 2002).



CLASSIFICAÇÃO DOS NATIMORTOS

Natimortos pré-parto

Esses leitões morrem de sete a dez dias antes da data do parto e estudos indicam que aproximadamente 10% dos leitões morrem nesse período (LEENHOUWERS *et al.*, 2001). Neste caso os animais são comumente classificados como mumificados, porém apresentam determinadas características que os diferenciam desta categoria, como a presença de pelos que nascem aos 100 dias de gestação e o grau de desidratação que é inferior ao dos mumificados.

Natimortos intra-parto

Os leitões classificados como intra-parto morreram durante o processo de parição e representam cerca de 75% da ocorrência de natimortos (LEENHOUWERS *et al.*, 2001). A principal causa primária dessas perdas ocorre pela anóxia decorrente da ruptura do cordão umbilical. Segundo Randall (1972), em 93,6% de leitões classificados como natimortos IP, o cordão umbilical encontrava-se rompido no momento da expulsão do leitão. Os fetos suínos apresentam baixa tolerância à anóxia, e quando a suplementação de oxigênio é interrompida, ocorrem danos

irreversíveis pois após cinco minutos causam morte por asfixia ou comprometimento da sobrevivência do leitão neonato (CURTIS, 1974; STANTON & CARROL, 1974; RANDALL, 1978).



Natimortos pós-nascimento

Nesse caso, a morte ocorre logo após o nascimento do leitão, representando um percentual de 15% da natimortalidade entre classes segundo Leenhouders et al., (2001). Outros autores incluem nos IP os leitões que apresentaram ar nos pulmões (RANDALL, 1972; GLASTONBURY, 1996).

Em outras definições, os natimortos pré parto (NAT PP) são os leitões que morreram no período gestacional e NAT IP quando a morte ocorre durante o parto. Nessa classificação, leitões que apresentam evidências de aeração nos pulmões devem ser computados na mortalidade pré-desmame, havendo apenas as classes PP e IP (GLASTONBURY, 1997; DYCK & SWEINSTRAS, 1987).

Além dessas classificações, há sugestão de incluir nas classes os leitões natimortos PN que nasceram com sinais vitais como batimentos cardíacos e/ou movimentos respiratórios, mas que morreram após a expulsão (LEENHOUDERS et al., 2001). Nesse último caso, as classes consideradas são PP, IP e PN.

Ainda segundo (GLASTONBURY, 1997) na prática, mesmo sem diferenciação, a taxa de NAT nas granjas industriais é composta pelas três classes de leitões natimortos: PP, IP e PN. Porém, os leitões que morrem após nascer devem ser contabilizados na mortalidade da maternidade, pois houve deficiência no atendimento ao parto.

ÍNDICES ACEITÁVEIS OBSERVADOS

A distribuição da natimortalidade assim como da mumificação nas leitegadas das matrizes segue um caráter não-normal, pois grande parte das fêmeas não apresenta esses problemas, as taxas elevadas são observadas em poucas fêmeas. Blackwell (1987) sugere que 60% dos partos não devem possuir natimortos e 75-80% das fêmeas apresentam de zero a um natimorto. Admite-se como normal índices entre 5 e 7% de natimortos, sendo que desses, 10 a 20% morrem antes e o restante durante o parto (ZANELLA *et al.*, 2007).

IDENTIFICAÇÃO DOS PRINCIPAIS FATORES DE RISCO

Fatores Ligados à Fêmea



Duração da gestação e do parto

A gestação, na espécie suína, tem duração média de 114 dias, com concentração de 85% dos partos entre 114 e 116 dias de gestação, todavia podendo apresentar amplitude de 110 a 119 dias (MEREDITH,1995). Segundo Christianson (1992), fêmeas com gestação curta (<112 dias) e longa (>117dias) podem apresentar maiores índices de natimortalidade quando comparadas com fêmeas que parem em período intermediário. A possibilidade de aumento na taxa de natimortos foi descrita por Zaleski e Hacker (1993) em gestações com menos de 110 dias. Outros autores, entre eles Canario *et al.* (2006), não encontraram correlação da duração da gestação com a ocorrência de natimortos.

Em relação à duração do parto, o risco é maior em partos prolongados (MUIRHEAD & ALEXANDER ,1997). DIAL *et al.* (1992) relataram que partos com duração superior a quatro horas apresentam maiores riscos de natimortalidade. Canario *et al.* (2006) encontraram um risco 23% maior para cada hora a mais do parto decorrido, comprovado por Borges *et al.* (2005) que observaram que as porcas com duração de parto maior que três horas tiveram duas vezes maior chance de apresentarem natimortos. Isso se deve ao rompimento ou compressão do cordão umbilical com conseqüente asfixia do feto. A duração do parto também pode ser influenciada pelo tamanho da leitegada e por fatores estressantes relacionados ao manejo e ambiente. Dentre esses, elevada intensidade sonora, altas temperaturas e intervenção ao parto não apropriada com uso excessivo de ocitocina, sua função no parto é promover as contrações uterinas, de forma ritmada, até que o leitãozinho nasça em dosagens erradas, induz a liberação de adrenalina e catecolaminas que podem bloquear a ação da ocitocina e assim leva à inércia uterina causando um prolongamento do parto (RANDALL ,1972; BAXTER & PETHERICK,1980; SILVEIRA *et al.*,1998).

A minimização do fator “estresse” ocorre com a adequada assistência ao parto o funcionário com a função de parteiro é responsável pela monitoração das fêmeas em trabalho de parto é por isso deve estar consciente do tempo de partição das fêmeas suínas que é em torno de duas a cinco horas, podendo ter uma media de 2,5 a 3 horas (ASH,1986; SENGER, 2003; JAINUDEEN & HAFEZ, 2004).

Ordem de Partos



Já existem diversos estudos que comprovam a maior ocorrência de natimortos em fêmeas com elevada ordem de partos: Tantasuparuk *et al.* (2000) observaram que ordem de parto maiores que 7 apresentaram taxas significativamente superiores de natimortos do que fêmeas mais jovens; Blackwell (1987) também observou que o risco aumenta com elevação da ordem de parto; Borges *et al.* (2005) concluíram que fêmeas de ordem de parto maior que 5 apresentam maiores chances do que as de ordem de parto entre 2 e 5 e as de 1º parto apresentaram menor incidência de natimortos que as demais, assim como também relatado por Leenhovens *et al.* (1999). Para Canario *et al.* (2006) a probabilidade de nascimento de leitões natimortos não foi significativamente diferente entre as ordem de parto 1 a 4, mas foi 1,6 maior nas porcas a partir do 5º parto. Mesmo com o estudo realizado entre três genéticas diferentes, Ibáñez-Escriche *et al.* (2009) encontraram em duas delas (Landrace e Large White), um aumento no número de natimortalidade à medida que houve aumento na ordem de parto. Mellagi *et al.*(2009) encontraram que 35% das fêmeas com a ordem de parto entre 6 e 10 apresentaram natimortos ao parto.

Pejask (1984) relaciona o aumento da natimortalidade em fêmeas mais velhas, com a condição corporal excessiva, que apresentam alterações no sistema reprodutivo e menor tônus muscular uterino.

Tabela 1-Relação entre OP das fêmeas e risco de natimortalidade.

ORDEM DE PARTO	RISCO DE APRESENTAR NATIMORTOS
1-2	22%
3-4	31%
5-6	40%
>7	49%

Adaptado de BLACKWELL (1987)

A taxa de natimortos em leitoas em primeiro parto geralmente é mais alta do que em fêmeas secundíparas (RANDALL & PENNY,1970).

Amaral Filha (2009) categorizou leitoas de acordo com o ganho de peso diário (GPD) do nascimento até a primeira cobertura e observou que fêmeas com alta taxa de crescimento apresentam maior percentual de natimortos. Young *et al.* (2008) também observaram que leitoas de alto ganho de peso diário (GPD) > 860g/d

apresentaram 9,6% de taxa de natimortos, enquanto fêmeas com ganho de peso diário < 680g/d e as entre 680-770g/d tiveram taxas de 6,4% de natimortos e as com ganho diário entre 770 e 860g/d mostraram percentual de 7,4%.



Pejask (1984) relatou que primíparas tendem a apresentar mais natimortos porque possuem a via fetal mais estreita. Além disso, o alto peso das fêmeas ao parto tende a prolongar a parição (MUIRHEAD & ALEXANDER,1997), o que aumenta as chances da ocorrência de natimortos. Segundo (WILLIAMS et al., 2005) as leitoas devem ser inseminadas com peso entre 135-150Kg para chegarem à parição com 30-40Kg a mais, em bom estado corporal

Deve-se ter em mente que o fator “Ordem de Parto” pode não influenciar no índice geral de natimortalidade do plantel em curto prazo, mas com o passar do tempo, se o programa de reposição de matrizes não for adequado, pode se tornar um importante fator de risco (WENTZ *et al.*, 2006). A manutenção de taxas de reposição anuais entre 45-50 matrizes concentrando 50% delas entre o 2° e 5° parto contribui para estabilidade produtiva e econômica da granja (PINILLA & LECZNIESKI, 2010).

Escore Corporal Visual (ECV)

Como já observado, existe maior correlação entre fêmeas obesas e altas taxas de natimortos (DIAL *et al.*,1992). Sugere-se que exista maior estreitamento da vida fetal mole e contrações uterinas mais fracas (BOS *et al.*,1987), com ocorrência também em fêmeas que não sofreram restrição alimentar no período pré-parto e apresentam excesso de matéria fecal no intestino. Os níveis de gordura subcutânea (espessura de toucinho) acima dos valores adequados podem causar um decréscimo de hemoglobina e, conseqüentemente, elevação da taxa de natimortalidade pela chegada insuficiente de oxigênio ao leitão (MILLER, 2008).

Sabe-se que a avaliação de escore corporal visual é muito subjetiva, mas é essencial que seja realizada pelo menos duas vezes ao longo da gestação (MILLER, 2008).

Histórico de Natimortos



O efeito aditivo da taxa de natimortalidade de 10% (BLACKWELL,1987) torna necessário manter um banco de dados na granja com o histórico de parição das fêmeas nos últimos três partos, o que facilita identificar possíveis fêmeas de risco.

Fatores Ligados à Leitegada e ao Leitão

Tamanho da Leitegada

O aumento do tamanho da leitegada (TL) é um fator muito almejado pelos suinocultores e, atualmente, vem se tornando cada vez mais presente no dia a dia através da incorporação de genéticas hiperprolíficas no plantel. Em virtude do intenso processo de melhoramento genético, houve um aumento de produção de uma média de 10,9 nascidos totais na década de 90 para 13,7 em 2006 (SMITS *et al.*, 2006). Como consequência, houve diminuição do peso ao nascer, com maior variabilidade entre os leitões e susceptibilidade da ocorrência de mortalidade fetal.

Glastonbury (1976) demonstrou que o tamanho da leitegada teve efeito significativo na ocorrência de natimortalidade, sendo que o aumento de sete para quinze leitões na média das leitegadas representou um aumento de 3,1% para 14,6% no índice de natimortos. Ibáñez-Escriche *et al.* (2009) encontraram relação entre o tamanho da leitegada e a taxa de natimortos, observando um aumento substancial a partir de 13 leitões nascidos por leitegada. Schneider (2002) observou que fêmeas com mais de 12 leitões nascidos totais tenderam a apresentar taxas mais elevadas do que aquelas com menor número de nascidos.

Segundo Fries *et al.* (2010), a hiperprolificidade das fêmeas atuais vem aumentando o tamanho das leitegadas e, conseqüentemente, diminuindo o percentual de partos com nascimento de poucos leitões, aumentando os fatores de risco para natimortalidade. Além disso, existem indicações que o espaço uterino seria um fator limitante fisiológico para o aumento do número de leitões por leitegadas (KNIGHT *et al.*,1977; WU *et al.*, 1988; GAMA; JOHNSON,1993; DZIUK,1994; WU e DZIUK,1995), devendo esse ser considerado e aprimorado na seleção genética, pois o mal desenvolvimento da placenta ocasiona maior mortalidade fetal (KNIGHT *et al.*,1977).

Peso do Leitão



A ocorrência de natimortalidade pode ser mais frequente com a diminuição do peso do leitão ao nascimento (CHRISTIANSON,1992; LEENHOUWERS,1999). Para Canario *et al.* (2006), o peso individual dos leitões possui importância na sobrevivência ao parto, sendo que Spicer e colaboradores (1986) observaram que 25% dos leitões nascidos com menos de 800 gramas foram natimortos, com média geral nos partos observados de 8,3%.

Borges *et al.*(2008) confirmaram que os leitões nascidos vivos com o peso médio de 1,395Kg apresentaram-se mais pesados do que os natimortos, que pesaram na média 1,181Kg. Spicer *et al.*(1986) que constataram baixas taxas de natimortalidade (1,7% e 2,5%) nos leitões com peso de 1,4-1,5Kg e 1,8-1,9Kg, respectivamente. Para Canario *et al.*(2006), o peso individual do leitão tem importância na sobrevivência ao parto, isso porque leitões leves possuem baixos níveis de hemoglobina, maior concentração plasmática de cortisol e maior peso da adrenal (ZALESKY & HACKER,1993). Sendo assim, a alteração na função da adrenal é responsável por anormalidades na diferenciação e crescimento dos tecidos (KLEMCKE *et al.*,1993) que se reflete na maior susceptibilidade à morte na parição. Também foi observado nos leitões mais leves menores concentrações de IGF-I e colesterol, que também contribuem para redução do crescimento, nutrição subótima e inadequado desenvolvimento do SNC (WISE *et al.*,1997). Segundo Ashworth *et al.* (2001), esses fetos de menor tamanho teriam também desenvolvimento assimétrico dos órgãos, placenta menores, baixa concentração plasmática de aminoácidos, capacidade placentária reduzida para transporte de leucina e atraso na troca dos transportadores placentários de aminoácidos. Dessa forma, os leitões de baixo peso ao nascimento possuem comprometimento da fisiologia muscular cardíaca e renal desde a vida intra-uterina (BAUER *et al.*,2003), explicando as maiores chances de nascerem mortos.

O fenótipo de um leitão recém nascido é resultante do seu desenvolvimento embrionário e fetal, mas este, por sua vez, é um processo complexo e altamente integrado, que depende do suprimento de nutrientes ao embrião/feto e de sua habilidade em utilizar os substratos disponíveis (EHFELDT;KUHN,2006).

As tentativas de reduzir esse fato devem visar à busca da uniformidade dentro da leitegada durante toda prenhes (ASHWORTH *et al.*, 2001), realizado principalmente através do suprimento alimentar adequado ao final da gestação. A genética também

esta buscando alternativas científicas para esse fim, mas mesmo que ocorresse maior seleção para o peso ao nascimento, isso poderia ser prejudicial pelo aumento da ocorrência de distocias pelo prolongamento do tempo de parição (DAMGAARD *et al.*,2003). Granjas que apresentam baixa prolificidade podem apresentar leitões muito pesados ao nascer, conseqüentemente havendo aumento das distocias, afetando a chance de sobrevivência de toda leitegada (IBÁÑEZ- ESCRICHE *et al.*,2009).



Intervalo entre Nascimentos e Ordem de Nascimento

O intervalo normal entre nascimento dos leitões varia entre 10 a 20 minutos, podendo chegar à uma hora, porém pode ser maior entre o 1° e o 2° leitão e antes do último (RANDALL,1986). Foi observado por Randall (1972) que o intervalo entre leitões vivos foi de 13 a 18 minutos, enquanto que o intervalo entre um vivo e um natimorto foi de 45-55 minutos. Já Spicer *et al.* (1986) encontraram intervalo médio de 70 minutos entre natimorto e 21 minutos entre todos da leitegada. Segundo Vallet e colaboradores (2009), os leitões podem tolerar intervalos de nascimento de até uma hora sem afetar a taxa de natimortalidade, relatando que o maior intervalo entre os primeiros leitões não influenciam na morte dos subsequentes. Outro fator que agrega risco nesse tópico é a presença de fetos mumificados na leitegada, pois essa pode prolongar o parto e aumentar o intervalo entre nascimentos (MENGELING *et al.*,2000). A ordem de nascimento também tem influência na natimortalidade porque afeta a ocorrência de leitões com o cordão umbilical rompido. Como já comentado, a anóxia traz danos irreversíveis para o leitão que pode já nascer morto e também para aquele que nasceu vivo, necessitando cuidados como sondagem para recebimento de colostro. Os últimos a nascerem precisam percorrer maior distância dentro do útero (ZALESKY;HACKER,1993) e são ainda mais prejudicados quando possuem baixo peso corporal.

Fatores Ligados ao Ambiente e Manejo

Estresse Geral e Térmico

O momento da parição de uma fêmea suína é um momento de muito estresse, principalmente para as leitoas, já que este fato ainda não foi vivido por elas, sendo completamente diferente das sensações costumeiras. Dessa forma, a transferência

das fêmeas do setor de gestação para a maternidade deve ser realizada de forma calma, sem gritos e agressões à fêmea e no tempo adequado antes da data prevista do parto. Kocwin-Podsiadla (1988) relatou que fêmeas transferidas para a maternidade com 102 dias de gestação apresentam baixas taxas de natimortalidade comparadas aquelas transferidas aos 112 dias.



Os movimentos corporais, principalmente dos membros posteriores da fêmea, auxiliam a saída dos líquidos durante o parto e a expulsão do feto. Sendo assim, Fraser *et al.* (1997) relataram que fêmeas em gaiolas pariram mais natimortos (7,1%) comparadas às que pariram em baias (4,2%), já que os locais muito estreitos ou restritos podem atrasar o nascimento dos leitões.

A ambiência nos setores de maternidade ainda é um desafio para os suinocultores do Brasil, pois é muito difícil manter um ambiente confortável para as fêmeas e ao mesmo tempo para os leitões e neonatos. Esse fato já vem sendo estudado desde a década de 70 por Omtvedt *et al.* (1971) quando submeteram 3 grupos de leitoas à diferentes níveis de temperatura no final da gestação. Houve menor número de nascidos vivos com mais natimortos naquelas que sofreram com o estresse de altas temperaturas. Segundo Vanderhaeghe *et al.* (2009), quando a temperatura ambiente excede os 22°C ao parto, o risco para casos de natimortalidade é aumentado. Isso se deve ao fato de que a elevação da temperatura nas proximidades do parto ocasiona estresse nas fêmeas resultando no aumento dos níveis de cortisol sanguíneo com a inibição da liberação de ocitocina mediada pelos opióides endógenos (EDWARDS, 2002). Assim, a baixa concentração de ocitocina pode diminuir as contrações uterinas na hora do parto, prolongando-o e aumentando a chance de nascerem natimortos (VANDERHAEGHE *et al.*, 2009).

Atendimento ao Parto

Assistir ao parto de forma adequada significa dar atenção a cada fêmea e seus leitões, interferindo quando for absolutamente necessário de acordo com uma recomendação para cada evento (WENTZ *et al.*, 2009). Vários autores já relataram a importância do atendimento ao parto com pessoal capacitado para diminuição da taxa de natimortalidade (HOLYOAKE *et al.*, 1995; MEREDITH, 1995; DIAL ; HOLYOAKE, 1996; WHITE *et al.*, 1996; MUIRHEAD; ALEXANDER, 1997; SCHNEIDER, 2002). Segundo Dial e Holyoake (1996), a taxa de natimortalidade

pode apresentar-se de maneira distinta quando o parto é ou não supervisionado. Já White et al.(1996) observaram redução significativa de 6,8% para 1,6% em fêmeas não supervisionadas comparadas àquelas submetidas a um protocolo de atendimento, respectivamente. Da mesma forma, Holyoake et al.(1995) relataram queda de 6,0% para 3,3% de natimortos com supervisão.

O sucesso da parição supervisionada é dependente do efetivo treinamento dos atendentes da maternidade como já abordado anteriormente. Schneider (2002) o autor ainda chama atenção para as possíveis falhas cometidas após a expulsão, como na secagem , desobstrução das vias aéreas e reanimação dos leitões, o que aumentaria as chances de natimortalidade principalmente pós-nascimento

O uso de ocitocina deve ser feito racionalmente, já que seu excesso pode causar hipotensão, espasmo uterino, hipertonia, asfixia e morte fetal, ruptura do útero, náuseas, vômitos e arritmias (OLIVEIRA,2006). Dependendo da dose utilizada, há risco de ocorrerem contrações espasmódicas mais prolongadas, dificultando as trocas gasosas com os fetos levando à um quadro de hipóxia fetal, com maior necessidade de intervenção ao parto (WELP & HOLTZ,1984). Mota- Rojas *et al.*(2005) utilizaram doses elevadas de ocitocina e observaram alta taxa de natimortalidade.

Após expulsos , deve-se remover as placentas que estão envolvendo o leitão e esses devem ser rapidamente estimulados através da massagem corporal que pode ser feita logo após a secagem. Após, é indispensável que esses animais ingiram colostro e sejam aquecidos para que se recuperem e possam sobreviver na leitegada (COSTA *et al.*,2005).

METODOLOGIA

A metodologia descritiva aqui proposta está baseada em um estudo quantitativo simples de dados secundários sobre alguns índices zootécnicos que são indicadores dos fatores apontados pela pesquisa bibliográfica como influenciadores da elevação da natimortalidade de leitões das raças *Large Withe* e *Landrace* que compõem o rebanho suíno das granjas estudadas. Este estudo de caso realizou a análise de dados de duas propriedades de mesmo dono denominadas granja A, a mais antiga das duas, a que fornece matrizes à segunda aqui denominada granja B. A granja "A" está a 548 metros acima do nível do mar e a "B" 200 metros acima de "A".



Portanto segundo os teóricos estudiosos do Clima a granja B tem uma temperatura 1,2 grau mais baixa que a granja A, uma vez que eles determinaram para latitudes tropicais uma queda de 0,6 a cada cem metros a mais na altitude, Para amenizar a temperatura no interior da granja em dias quentes e ensolarados foram instalados equipamentos de ventilação e aspersão de água para amenizar as porcas principalmente em final de gestação. Outro fator que deve ser levado em conta é a grande concentração de matrizes por metro quadrado uma vez que elas utilizam o sistema onde as matrizes passam sua vida reprodutiva em gaiolas com mínima possibilidade de movimentação, levando a falta de exercícios e ao stress térmico, conseqüente do calor da região onde estão instaladas e do próprio calor corporal ampliado pela proximidade das gaiolas. Hoje o conceito de "Bem Estar Animal" preconiza a proporcionar conforto e maior bem estar durante a vida dos animais destinados à produção de alimentos e serviços. Sendo as granjas do mesmo dono, desconsideramos diferenças em manejo em geral, origem e qualidade dos alimentos, padrão genético e manejo reprodutivo e de atendimento das porcas na parição. A Granja "A" devido à temperatura atmosférica mais alta e por se encontrar em terreno inclinado em um vale encaixado de pouca ventilação, recebeu um sistema de ventilação e pulverização para amenizar o desconforto térmico nos galpões de gestação e parição. O Sêmen utilizado nas inseminações é coletado, diluído e conservado na granja "A" para futura utilização nas duas granjas. Segundo informação eles são transportados de motos da granja fornecedora "A" para a granja "B". A granja A por ser a fornecedora de matrizes para a granja B, devido a grande demanda por matrizes na nova granja, ficou desfalcada na sua reposição de matrizes mantendo assim, porcas de elevada ordem de partos, acarretando aumento de leitões natimortos nesta fase. De posse destes dados identificou-se aqueles que apresentem impacto negativo ou positivo na natimortalidade. Finalmente um protocolo de propostas de manejo, que possam reduzir a natimortalidade nestas granjas, foi proposto com a intenção de melhorias de práticas de manejo e de futuras pesquisas.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Mesmo havendo diferença significativa entre os microclimas das duas propriedades foi inviável aprofundar estudos específicos sobre a influencia da temperatura ambiental por falta de dados. Apenas salientamos o fator que também é



de grande significância, uma vez que a diferença entre a altitude dos dois terrenos leva a uma diferença de aproximadamente 1,2° Celsius o que pode ter contribuído com a maior diferença nos índices, referentes aos primeiros anos. Na ocasião não havia sido instalados ainda os equipamentos de ventilação e aspersão de finas gotículas de água na granja A, onde a temperatura é 1,2° mais elevada que na granja B.

As ordens de parto das fêmeas variaram entre 1 a 4, observando-se que nas duas granjas houve a introdução de matrizes jovens tendo a diminuição do ciclo médio. Foi observado uma adequada taxa de reposição de matrizes para obter um plantel com mais fêmeas concentradas entre as ordens de parto 3-4 que são mais produtivas, sendo realizado o descarte das fêmeas com ciclos médios elevados.

Tabela 2 - Dados analisados na Granja A de 2010 à 2014

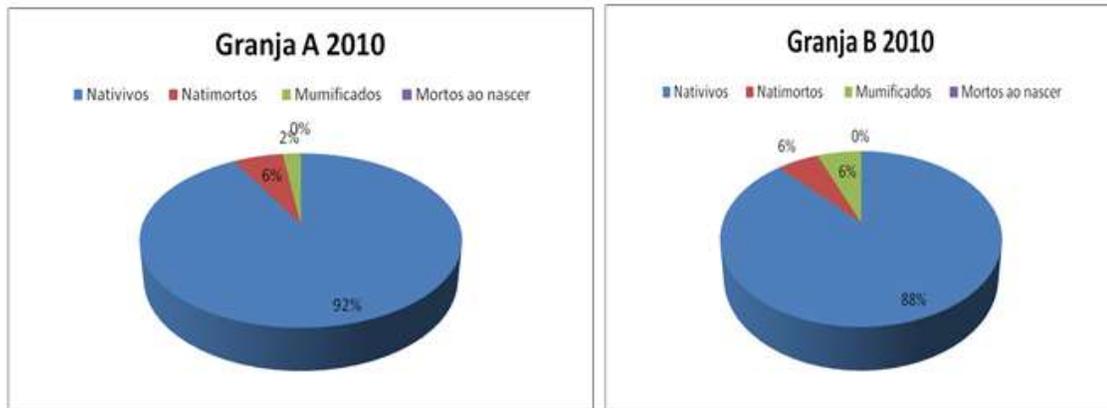
Médias dos Indicadores GRANJA A					
Fatores Analisados	2010	2011	2012	2013	2014
Peso X ao nascer	1,44	1,44		1,40	1,35
Nativos	10,97	11,26		12,07	12,51
Natimortos	0,72	0,61		0,86	1,00
Mumificados	0,26	0,19		0,19	0,17
Mortos ao nascer	0,00	0,01		0,00	0,00
Total de leitões/leitegadas	11,96	12,07		13,12	13,69
Ganho de peso ao desmame (kg)	0,166	0,177		0,169	0,170
Ciclo médio	3,68	3,49		3,05	3,04
Período médio da gestão (dias)	115,93	115,71		115,57	115,19
X duração parto(h)	-	02:42		02:57	03:09

Tabela 3: Dados analisados da Granja B de 2010 à 2014

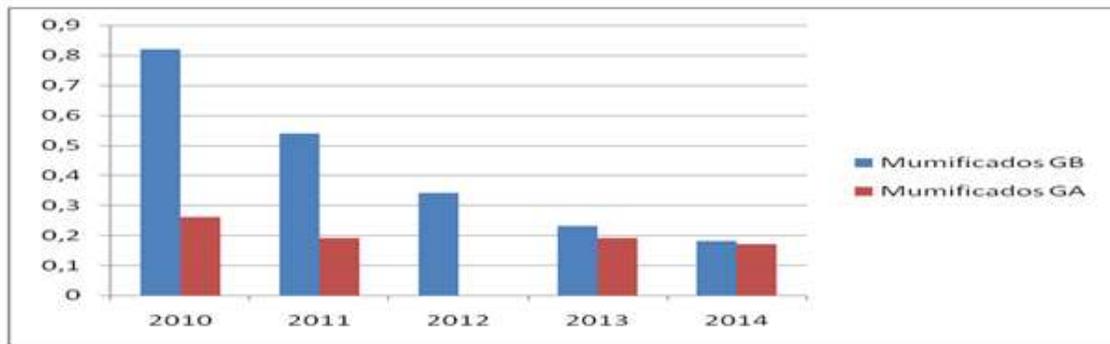
Médias dos Indicadores GRANJA B					
Fatores Analisados	2010	2011	2012	2013	2014



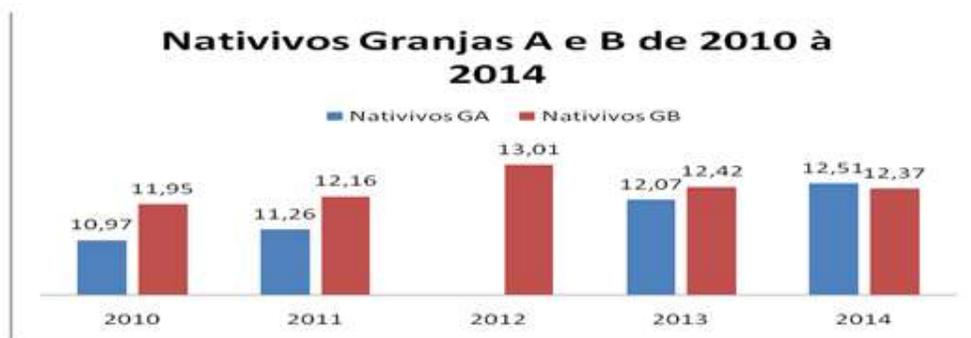
Peso X ao nascer	1,38	1,45	1,50	1,56	1,35
Nativos	11,95	12,16	13,01	12,42	12,37
Natimortos	0,78	0,74	1,02	0,75	0,96
Mumificados	0,82	0,54	0,34	0,23	0,18
Mortos ao nascer	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
Total de leitões/leitegada	13,56	13,46	14,38	13,40	13,52
Ganho de peso ao desmame (kg)	0,181	0,203	0,200	0,181	0,203
Ciclo médio	1,00	2,23	4,20	2,92	2,99
Período médio da gestão (dias)	116,25	115,70	116,15	115,73	115,16
X duração parto(h)	-	01:57	02:23	02:33	02:40



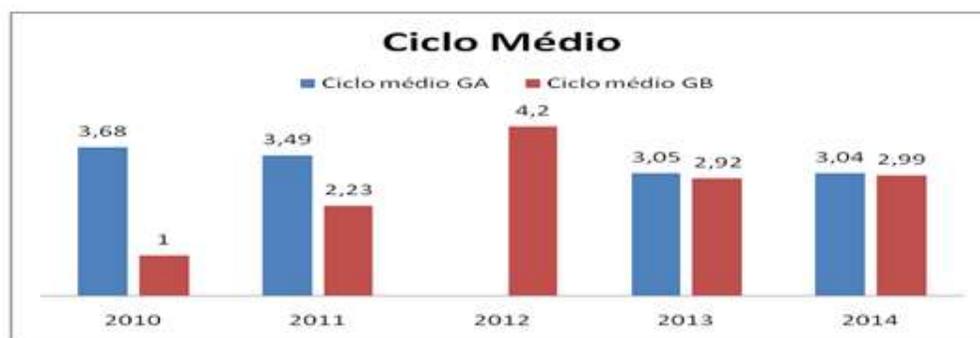
No ano de 2010 houve um maior número de leitões mumificados na granja B. diminuindo assim a porcentagem de leitões vivos. Sendo que o ciclo médio teve os seguintes valores: Granja A 3,68, Granja B 1,0, pois nesta última as matrizes eram primíparas. O período de gestação na Granja A foi de 115,93 dias e na Granja B 116,25 dias não foi possível identificar o fator causal deste aumento de fetos mumificados, talvez estejam relacionados com o transporte do semen. Portanto utilizamos a análise comparativa deste índice nas duas propriedades nos 5 anos, com o seguinte resultado:



Este resultado parece confirmar a suspeita do impacto no transporte de sêmen que necessita de maiores informações para considerá-lo.



Esta diferença entre nativos encontrados nas duas granjas está relacionada com o ciclo médio das fêmeas. Isso é possível verificar na tabela abaixo:



Esta diferença observada entre o número de nativos nas duas granjas está relacionada com o ciclo médio encontrado também nas duas. Observa-se que a partir de 2013 houve aumento das matrizes primíparas no plantel da GB levando a uma estabilização do número de nativos.



O número médio de leitões vivos e mortos por leitegada nos cinco anos pesquisados não apresentaram diferença significativa uma vez que a genética é a mesma. O período médio de gestação nas duas granjas também mostraram-se equivalentes comprovando o fator genético comum entre ambas. Já os dados referentes ao período médio dos partos foram bem diferentes entre as duas granjas, na GA onde ocorre um maior número de matrizes mais velhas e de maior ciclo os partos foram mais demorados com uma média nos 5 anos de 3:03 horas,. Na Granja B por estarem sendo introduzidas periodicamente novas matrizes primíparas este tempo médio dos partos é bem menor com a duração média de 2:23 horas.



Foi observada uma pequena diferença na média do peso ao nascer, no ganho de peso ao desmame e no número de leitões por leitegada, não confirmando o que foi visto na bibliografia que aponta uma correlação inversa entre número de leitões e as respectivas médias dos pesos destes ao nascer e ao ser desmamados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo da natimortalidade possibilitou diagnosticar e relacionar vários fatores de risco, descritos na literatura, com o aumento da ocorrência da taxa de

natimortos. Cada sistema pode apresentar diferentes fatores, sendo cada caso específico e com necessidade de identificá-los individualmente. Assim, a aplicação de medidas primeiramente para controle e, a longo prazo, para prevenção desse problema podem ser eficientes para obtenção de maior lucro com a produtividade na suinocultura. Nas duas unidades onde foi realizado o estudo, verificamos a confirmação da maioria das informações obtidas no estudo bibliográfico. Essas duas unidades possuem tempos diferentes de funcionamento, mas atualmente estão equiparadas aos percentuais desejáveis de número de nativos, sendo que a granja que possui menor tempo de funcionalidade apresenta grande potencial de crescimento e de oferta de condições ambientais favoráveis ao rebanho.

Os resultados obtidos nesta pesquisa nos orientam a elaborar protocolos que corrijam a deficiência na assistência das matrizes em trabalho de parto, principalmente no período noturno, pois dizer que os nascimentos só ocorrem na manhã e que os números dos leitões mortos pós parto são nulos, nos pareceu inverdade. O número de leitões mumificados nos levou a elaborar um protocolo específico para análise da viabilidade do sêmen antes e depois de algum deslocamento.

Por último recomendamos um estudo mais apurado sobre o conforto térmico nas duas granjas bem como o custo mais elevado na granja A, referente a compra e manutenção de equipamentos para estabilização climática de acordo com as necessidades.

REFERÊNCIAS

ALEXOPOULOS C., SARATIS P., SAMOUILIDIS S., SAOULIDIS K., BROZOS C. & KYRIAKIS S.C. ***The effect of cloprostenol alone or with oxytocin on induction of parturition, litter characteristics and subsequent fertility of the sow.*** *Reproduction in Domestic Animals*.v.33.1998

AMARAL FILHA, W.S. **Reflexo da taxa de crescimento em leitoas do peso a primeira inseminação sobre o desempenho reprodutivo subsequente e longevidade da matriz** Tese (Doutorado) Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

ASH, M. ***Management of the farrowing lactating sow.*** In : MORROW D.A.(Eds). ***Current therapy in theriogenology.*** 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986.

ASHWORTH,C.J.;FINCH,AM.;PAGE,K.R.,NWAGWU,M.O.;McARDLE,H.J. **Causes and consequences of fetal growth retardation in pigs.** *Reproduction*, v.58, 2001.

BAUER,R.; WALTER ,B.;BRUST,P.;FUTCHNER,F.;ZWIENER,U. **Impact of asymmetric intrauterine growth restriction on organ function in newborn piglets.** *Eur.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol.* v.110, 2003.

BAXTER,M.R.;PETHERICK,J.C.**The effect of restraint on parturition in the sow.** In: NIELSEN N.C.;HOGH,P.;BILLE,N. (Eds): *Proc.International Pig Veterinary Society Congress.* Copenhagen,Denmark.1980.

BLACKWELL,T.E. **Predicting stillbirth problems.** *Swine Production Management-Compendium Food Animal*,1987. V.9,n.11.

BORGES,V.F.;BERNARDI,M.L.;BORTOLOZZO,F.P.;WENTZ,I. **Risk factors for stillbirth and foetal mummification in four Brazilian swine herds.** *Preventive Veterinary Medicine*,v.70,2005.

BORGES,V.F.;BERNARDI,M.L.;BORTOLOZZO,F.P.;WENTZ,I. **Perfil de natimortalidade de acordo com ordem de nascimento, peso e sexo dos leitões.** *Arq.Bras. Med.Vet.Zootec.*,v.60,n.5,2008.

BOS,F. **Pre and ante care saves piglet's lives.** *Pigs-Misset*,1987.

CANARIO,L.;CANTONI,E.;LE BIHAN,E.;CARITEZ,J.C.;BILLON,Y.;BIDANEL, J.P.;FOULLEY,J.L.**Between-breed variability of stillbirth and its relationship with sow and piglet characteristic.** *J.Animal Science*,v.84,2006.

CHRISTIANSON,W.T. **Stillbirths, mummies, abortions, and early embryonic death.**In: TUBBS,R.C.;LEMAN,A.D.*Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice-Swine Reproduction.* Philadelphia:W.B.Saunders Company,v.8,1992.

COSTA, O.A.D; LUDKE, J.V; COSTA, M.J.R.P. **Aspectos econômicos de bem estar animal no manejo dos suínos da granja ao abate.** In: *Seminário Internacional de Aves e Suínos*, 4, 2005, Florianópolis. *Anais...Florianópolis*, 2005,

CURTIS,S.E. **Responses of the piglet to perinatal stressors.** *Journal of animal Science*,v.38,1974.

DAAMGARD,L.H.;RYDHMER,P.;VENDAHL,P.L.;GRANDINSON,K.**Genetic parameters for within-litter variation in piglet birth weight and change in within-litter variation during suckling.** *J. Animal Science*,v.81,2003.

DIAL,G.D.;MARSH,W.E.;POLSON,D.D.;VAILLANCOURT,J.P.**Reproductive failure: differential diagnosis.** In: LEMAN,A.D.;STRAW,B.E.;MENGELING,W.L.;ALLAIRE,S.D.;TAYLOR,D.J. *Diseases of swine.* 7 ed.,London: Wolfe,1992.

DIAL,G.D.;HOLYOAKE,P. **Reducing preweaning mortality.** *Pigletter international*,v.16,1996.

DYCK,G.W.;SWEINSTR,A,E.E. **Causes of piglet death from birth to weaning.** *Canadian Journal of Animal Science*,v.67,1987.



DIZIUK,P.J. **Physiological limits to litter size.** In: Congress Of International Pig Veterinary Society.13.,1994

EDWARDS,S.A. Perinatal mortality **in the pig:environmental on physiological solutions?** *Livestock Production Science*,v.78,2002.

ENGLISH,P.R. **Improving reproductive performance of the breeding herd and the education, training and motivation of stockpeople.** In: Seminário Internacional de Suinocultura, São Paulo, Anais.1998.

FRASES,D.;PHILLIPS,P.A.;THOMPSON,B.K.**Farrowing behavior and stillbirth in two environments: an evolution of the restraint-stillbirth hypothesis.***Applied Animal Behaviour Science*,v.55,1997.

FRIES,H.C.C.;GAVA,D.;WENTZ,I.;BORTOLOZZO,F.P.**Natimortos e mumificados.** In:BORTOLOZZO,F.P.;WENTZ,I.(Eds). *Suinocultura em ação- A fêmea suína em lactação.* Porto Alegre: Gráfica Palotti,2010.

GAMA,L.L.T.;JOHNSON,R.K. **Changes in ovulation rate, uterine capacity, uterine dimensions, and parity effects with selection for litter size in swine.** *Journal of Animal Science*,v.71,1993.

GLASTONBURY,J.R.W. **Prewaning mortality in the pig pathological findings in piglets dying before and during parturition.***Australian Veterinary Journal*,1977

HOLYOAKE,P.K.;DIAL,G.D.;TRIGG,T.;KING,V.L. **Reducing pig mortality through supervision during the perinatal period.** *Journal of Animal Science*,v.73,1995.

IBÁÑEZ ESCRICHE,N.;VARONA,L.; CASELLAS,J.;QUINTANILLA,R.; NOGUEIRA,J.L. **Bayesian threshold analysis of direct and maternal genetic parameters for piglet mortality at farrowing in Large White,Landrace and Pietran populations .** *Journal Animal Science*,v.87,2009.

JANUEEDEN,M.R.;HAFEZ,E.S.E. **Gestação, fisiologia pré-natal e parto.** In: HAFEZ,E.S.E;HAFEZ,B. *Reprodução animal.*7 ed.Manole,São Paulo.2004.

KLEMCKE,H.G.;LUNSTRA,H.M.;BROWN-BORG,K.E.;BORG; CHRISTENSON,R.K. **Association between low birth weight and increased adrenocortical function in neonatal pigs.** *J.Animal Science*,v.71,1993.

KNIGHT,J.W.;BAZER,F.W.;TATCHER,W.W.;FRANKE,D.E.;WALLACE,H.D. **Conceptus development in intact and unilaterally hysterectomized-ovariectomized gilts:interrelations among hormonal status,placental development, fetal fluids and fetal growth.** *J.Animal Science*,v.44,1977.

KOCWIN-PODSIADLA,M.;PIECH,H.;CHRZANOWSKA,E.;PALKA,E. *Time of transfer to a farrowing shed of pregnant sow and their biochemical and physiological response.*Animal Breed Abstract,1988.



LUCIA,T.J.R.;DESCHAMPS,J.C.;CORRÊA,M.N. **Estratégias de gerenciamento de informação aplicadas à suinocultura.** Revista Brasileira de Reprodução Animal,v.23,1999.

MELLAGI,A.P.G.;HEIM,G.,BERNARDI,M.L.,BORTOLOZZO,F.P.,WENTZ,I. **Caracterização e desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas à intervenção obstétrica manual.** Ciência Rural,v.39,2009.

MENGELING,W.L.;LANGER,K.M.;VORWALD,A.C. *The effect of porcine parvovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus on porcine reproductive performance.* Animal Reproduction Science,v.60-61,2000.

MEREDITH,M.J. *Pig breeding and infertility.* In: **MEREDITH,M.J. Animal Breeding and Infertility.** Cambridge:blackwell Science,1995.

MILLER,S.P.12 **Risk Factors** Worth Checking.National Hog Farmer.2008.

MOTA-ROJAS D.,NAVA-OCAMPO A.A.,TRUJILLO M.E.,VELÁZQUEZ- ARMENTA Y.,RAMÍREZ –NECOECHEA R.,MARTÍNEZ-BURNES J.& ALONSO- MOTA-ROJAS,D.;MARTÍNEZ-BURNES,J.;ALONSO-SPILBURY,M.L.;LOPEZ,A.;RAMIREZ-NECOECHEA,R.;TRUJILLO- ORTEGA, M.E.;MEDINA-HERNANDEZ,F.J.;DE LA CRUZ,N.I.;ALBORES- TORRES,V.;LOREDO-OSTIS,J. **Meconium staining of the skin and meconium aspiration in porcine intrapartum stillbirths.** Livestock Science, v.102,2006.

MUIRHEAD,M.R.;ALEXANDER,T.J.L. **Managing pig health and the treatment of disease.** United kingdom,1997.

OLIVEIRA,C.M. **Medicamentos que atuam na motilidade uterina.** In: SPINOSA,H.S.,GÓRNIK,S.L.& BERNARDI,M.M.(Eds). Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.4.ed.Rio de Janeiro:Guanabara Koogan. 2006.

OMTVEDT,T.I.;NELSON,R.E.;EDWARDS,R.L.;STEPHENS,D.F.;TURMAN. E.J. **Influence of heat stress during early,mid and late pregnancy of gilts.**Journal of Animal Science,v.32,1971.

PEJASK,Z. **Some pharmacological methods to reduce intrapartum death of piglets.** Pig News and Information,v.5,1984.

PINILLA,J.C.;LECNIESKI,L.Parity **Distribution Management and Culling.**In: 24° Manitoba Swine Seminar.Proceedings.2010.Manitoba,Canada.

RANDALL,G.C.B.;PENNY,H.C. **Stillbirth in the pig: an analysis of the breeding Records of Five Herds.**British Veterinary Journal,v.126,1970.

RANDALL,G.C.B. **Observations on parturition in the sow II.Factors influencing stillbirth and perinatal mortality.**Veterinary Record,v.90,1972.

RANDALL,G.C.B. **Perinatal mortality: Some problems of adaptation at birth.** Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine,v.22,1978.

RANDALL,G.C.B. **Physiology of late pregnancy and parturition in swine.** In: MORROW,D.A.(Ed).Current therapy in theriogenology. 2 .ed.Philadelphia: W.B.Saunders Company,1986.

REHFELDT C.;KUHN G. **Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis.** Journal of Animal Science.2006.

SCHNEIDER,L.G. **Natimortalidade suína em granjas industriais: distribuição, qualidade dos registros do parto e causas associadas à natimortalidade pré-parto,intraparto e pós-nascimento.**2002.

SENGER,P.L. **Pathways to pregnancy and parturition.**2 ed. Ephrata: Current Conceptions,2003.

SILVEIRA,P.R.S.et al. **Manejo da fêmea reprodutora.** In: SOBESTIANSKY,J.,WENTZ,I.;SCHEUERMANN,G.N (Eds).Suinocultura intensiva: produção,manejo e saúde do rebanho. Concórdia:Embrapa,1998.

SMITS C.H.M.,RAMAEKERS P.,KEMP B.,HAZELEGER W.& WU G. **The role of functional nutrients in prenatal survival and growth of porcine fetuses in early gestation.** In:UNIVERSITY OF MINNESOTA REPRODUCTION WORKSHOP: ACHIEVING AND EXCEEDING SOW PRODUCTION TARGETS,2006, Alberta,Canada.2006.

SPICER,E.M.;DRIESEN,S.J.;FAHY,V.A.;et al. **Causes of preweaning mortality on a large intensive piggery.**Australian Veterinary Journal,v.63,1986.

STANTON,H.C.;CARROL,J.K. **Potential mechanisms responsible for prenatal and perinatal mortality or low viability of swine.** Journal of Animal Science,v.38,1974.

TANTASUPARUK,W.;LUNDEHEIM,N.;DALIN,A-M.;KUNAVONGKRIT,A.; EINARSSON,S. **Reproductive performance of purebred Landrace and Yorkshire sows in Thailand with special reference to seasonal influence and parity number.**Theriogenology,v.54,2000.

VALLET,J.L.;MILES,J.R.;BROWN-BRANDL,T.M.;NIENABER,J.A. **Effect of empty uterine space on placental development,farrowing intervals and stillbirth.** Program and Abstract Book,2009.

VANDERHAEGHE,C.;DEWULF,J.;RIBBENS,S.;DE KRUIF,A.;MAES, D.A. **Cross-sectional study to collect risk factors associated with stillbirths in pigs herds.** Animal Reproduction Science,v.118,2009.

ZANELLA,E.;SIVEIRA,P.R.S.;SOBESTIANSKY,J. **Falhas reprodutivas.** In: SOBESTIANSKY,J.;BARCELLOS D.(Eds.) Doenças de Suínos. Porto Alegre: Gráfica Palloti,2007.

WELP C.,JOCHLE W.& HOLTZ W. **Induction of parturition in swine with a prostaglandin analog and oxytocin: a Trial involving dose of oxytocin and parity.** Theriogenology.v.22,1984.

WENTZ,I.;CYPRIANO,C.R.;VARGAS,A.M.J.;BERNARDI,M.L.;BORTOLOZZO,F.P. **Fatores de risco para leitões natimortos e mumificados.**In: III Congresso Latino Americano de Suinocultura, 2006,Foz do Iguaçu. Anais. Embrapa.2006

WENTZ,I.;BIERHALS,T.;MELLAGI,A.P.G.;BORTOLOZZO,F.P. **Importância do atendimento ao parto na melhoria da produtividade em suínos.**In: ACTA SCIENTIAE VETERINARIAE. Anais. Porto Alegre: Editora da UFRGS,2009.

WHITE,K.R.;ANDERSON,D.M.;BATE,L.A. **Increasing piglet survival through an improved farrowing management protocol Canadian** Journal of Animal Science,v.76,1996.

WILLIAMS,N.H.;PATTERSON,J.;FOXCROFT,G. **Non-negotiables in gilt development.** Adv.Pork Production,v.16,2005.

WISE,T.;ROBERTS,A.J.;CHRISTENSON,R.K. **Relationships of light and heavy fetuses to uterine position, placental weight,gestation age, and foetal cholesterol concentrations.** J.Animal Science,v.75,1997.

WOOD,E.N. **Increased incidence of stillbirth in piglets associated with high levels of atmospheric carbon monoxide.** Veterinary Record,v104,1979.

WU,M.C.;HENTZEL,M.D.;DZIUK,P.J. **Effect of stage gestation,litter size and uterine space on the incidence of mummified fetuses in pigs.**J.Animal Science,v.66,1988.

WU,M.C.;DZIUK,P.J. **Relationship of length of uterus in prepubertal pigs and number of corpora lútea and fetuses at 30 days of gestation.** Animal Reproduction Science,v.38,1995.

YOUNG,M.G.;TOKACH,M.D.;AHERNE,F.X.;DRITZ,S.S.;GOODBAND,R.D.;NELSSEN,J.L.;LOUGHIN,T.M. **Effect of space allowance during rearing and selection criteria, on performance of gilts over three parities, in a commercial swine production system.**J. Animal Science,v.86,2008.

ZALESKY,H.M.;HACKER,R.R. ***Variables related to the progress of parturition and probability of stillbirth in swine.*** Canadian of Veterinary Journal,v.34,1993.

TRATAMENTOS CIRÚRGICOS DAS DEFORMIDADES FLEXURAS EM EQUINOS: RELATO DE TRÊS CASOS

Acadêmicos: Rafael Rolim de Oliveira

Douglas de Ornelas Silva

Orientador: Bruno Cândido de Andrade

RESUMO

As deformidades flexurais adquiridas nos equinos são parte do complexo das doenças ortopédicas do desenvolvimento, devendo ser diagnosticadas precocemente para o estabelecimento do tratamento e obtenção de prognósticos favoráveis. Entre as principais abordagens, podemos destacar as conservativas, por adoção de medidas de manejo e terapia medicamentosa e as cirúrgicas, que envolvem a secção de componentes relacionados ao aparelho flexor do dígito do equino. Foram avaliados nesse estudo os tratamentos cirúrgicos e evolução de três casos de deformidade flexural adquirida em equinos jovens, oito e vinte e seis meses de idade. Os tratamentos consistiram na tenotomia do tendão flexor digital profundo (TFDP), desmotomia do ligamento acessório distal do tendão flexor digital profundo (LADTFDP) e tenotomia da cabeça medial do tendão flexor digital profundo, conforme indicado para cada caso. Nos três casos avaliados, a abordagem cirúrgica apresentou melhores resultados para a resolução das afecções do que as tentativas de tratamento conservativo empregadas. Não foram observadas intercorrências que restringissem a indicação das técnicas.

PALAVRAS CHAVE: deformidades flexurais adquiridas e congênitas, tratamentos cirúrgicos, equinos.

INTRODUÇÃO

As deformidades flexurais do tipo contraturas músculo-tendíneas são caracterizadas por flexão acentuada das articulações do carpo, metacarpo-falangeana e interfalangeanas proximais e distais dos equídeos, podendo acometer um ou ambos os membros torácicos. Além disso, pode ser uma afecção encontrada em menor frequência nos membros pélvicos. As principais causas podem ser relacionadas à dor no membro ocasionando um reflexo de afastamento pela flexão resultando em uma contração da musculatura flexora e conseqüente alteração no posicionamento articular (STASHAK, 2006).

Deformidades de flexão geralmente envolvem vários componentes, como o tendão flexor digital profundo (TFDP), tendão flexor digital superficial (TFDS), aparato suspensor e componentes musculares e ligamentares. Vários fatores etiológicos têm sido relacionados e numerosos elementos determinantes são associados com deformidades de flexão. Um fator é a dor crônica, que pode ser resultado de epifisite, osteocondrose, doenças articulares, fraturas, danos aos tecidos moles, osteocondrite dissecante, entre outros. Possíveis fatores causais

incluem crescimento rápido associado com desequilíbrios minerais nutricionais, superalimentação energética ou proteica, falta de exercícios, casqueamento inadequado, predisposição genética e fatores endócrinos (MCLLWRAIT *et al.*, 2013).

O diagnóstico é realizado com base na observação dos sinais clínicos, como flexão acentuada das articulações metacarpo-falangeana, causando uma projeção dorsal da articulação do boleto (emboletamento) e interfalangeanas proximal e distal, e que tende a causar elevação dos talões, com transferência do apoio apenas para as pinças dos cascos. O tratamento é indicado de acordo com a intensidade da afecção podendo ser conservativo ou cirúrgico. O tratamento conservativo consiste na administração parenteral de oxitetraciclina, utilização de talas, indicação de exercícios físicos, cuidados com o casco e adequação do manejo nutricional. Os animais com deformidades flexurais da articulação interfalangeana distal (AID) devem ter os talões aparados de modo que a força de tensão seja transferida para o tendão flexor digital profundo para induzir um reflexo miotático inverso, sendo esta conduta indicada com bons resultados nos casos leves. Quando a pinça do casco estiver desgastada, contundida ou deformada é importante combinar o cuidado com os talões com a aplicação de acrílico nas pinças. Nas deformidades flexurais do boleto recomenda-se a elevação dos talões e desgaste das pinças para produzir uma diminuição da carga sobre o TFDP e consequente transferência de carga para o TFDS (STASHAK, 2006).

O tratamento cirúrgico é indicado nos casos não responsivos ao tratamento conservativo. As deformidades flexurais da AID no estágio 1 devem ser tratadas com a desmotomia do ligamento acessório distal do tendão flexor digital profundo. A tenotomia do TFDP é indicada em casos graves de evolução longa de deformidade flexural da AID. O tratamento cirúrgico das deformidades flexurais da articulação do boleto varia com relação ao componente que está mais acometido. Se ao exame clínico for diagnosticado maior tensão no TFDP com o membro em extensão, pode-se indicar a tenotomia do mesmo ou a desmotomia do ligamento acessório distal do TFDP. Nos casos em que o TFDS estiver mais tenso pode ser indicada a tenotomia e utilização de uma tala de PVC forçando a extensão do membro como medida auxiliar. Em casos muito severos onde o TFDS e TFDP estão muito tensos pode ser realizada a tenotomia de ambas as estruturas (MCLLWRAITH e ROBERTSON, 1998).

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

DEFORMIDADES FLEXURAS

Nos equinos, os problemas relacionados à restrição do movimento de uma articulação em posição flexionada com dificuldade de extensão completa são denominados de deformidades flexurais dos membros (ADAMS e SANTSCH, 1999). Nos potros acometidos, as unidades musculotendíneas dos tendões flexores digital superficial e profundo e seus ligamentos acessórios, o ligamento suspensor do boleto, as cápsulas articulares e os ligamentos colaterais impedem a extensão normal da articulação. Usualmente encontra-se ossos malformados em animais com deformidades flexurais congênitas, e muito raramente ocorrem simultaneamente nas deformidades flexurais adquiridas (ADAMS e SANTSCH, 1999).

As deformidades flexurais podem envolver as articulações do carpo, boleto e a interfalangeanas proximal e distal (ADAMS e SANTSCH, 1999). Os tendões na maioria das vezes não são a origem do problema e sim uma deficiência de crescimento de toda unidade musculo-tendínea em relação ao crescimento do tecido ósseo. Assim sendo o termo “tendões contraídos” deve ser evitado pelo motivo de que os tendões não estarão contraídos, e sim relativamente mais curtos em relação às estruturas do esqueleto. Por isso o termo aceito atualmente é deformidade flexural (JANSSON e SONNICHSEN, 1995).

Essa condição acomete principalmente animais jovens, mas também pode se manifestar em equinos adultos. As deformidades adquiridas são divididas em deformidade interfalangeana distal, observada em animais de um a seis meses de idade, e deformidade metacarpo-falangeana, observada mais frequentemente em animais de seis meses a dois anos de idade (WYN-JONES *et al.*, 1985).

DEFORMIDADES FLEXURAS CONGÊNITAS

As deformidades flexurais congênitas podem acometer todas as articulações dos membros dos equinos, embora sejam identificadas com maior frequência nas articulações interfalangeanas, metacarpo-falangeana ou rádio-cárpica-metacárpica. Podem acometer uma ou mais articulações no mesmo animal, embora sejam normalmente centradas primariamente ao redor de uma articulação do membro (EMBERTSON; GREET 1994 e CURTIS, 2003).

O desencadeamento dessas afecções é multifatorial em sua origem e frequentemente são de difícil explicação. Várias são as hipóteses relacionadas a fim de se estabelecer fatores causais que realmente tenham importância no seu desenvolvimento como doenças adquiridas pela égua durante a gestação que podem causar o desenvolvimento de deformidades flexurais em potros, ingestão de agentes teratogênicos e alterações genéticas (AUER, 1992; WAGNER, 1994), alterações neuromusculares, defeitos na formação de elastina e problemas relacionados à aderência das fibras de colágeno podem também estar envolvidos com a patogênese (HUNT, 2003).

As deformidades congênitas são identificadas logo após o nascimento do animal e são de causa desconhecida. O mau posicionamento uterino do feto é um fator que já foi muito discutido como uma das principais causas, porém com os novos estudos observou-se que este não é o principal problema (LOKAI, 1992; HUNT, 2003). As teorias de hereditariedade das deformidades flexurais relacionadas ao garanhão também não foram totalmente conclusivas (OWEN, 1975; LOKAI, 1992). A etiologia também pode estar ligada a alguns fatores nutricionais da égua, devido à ingestão de plantas do gênero *Astragalus*. A diferença de apresentação, intensidade e resposta aos vários tipos de tratamento podem indicar que o potro pode possuir diferentes deformidades e várias etiologias para estas (MATTHIESSEN, 1994). A instabilidade articular associada às más formações ósseas pode resultar em contratura muscular compensatória (STASHAK, 1994).

DEFORMIDADES FLEXURAS ADQUIRIDAS

As deformidades flexurais adquiridas ocorrem comumente desde os primeiros dias até o segundo ano de vida do animal. Envolvem com maior frequência a articulação interfalangeana distal, a articulação metacarpo-falangeana e rádio-cárpica-metacárpica (HUNT, 2003). Estes tipos de deformidades são as que apresentam maior incidência, manifestando-se, em geral, a partir da desmama e acometendo os dois membros torácicos dos potros. Raramente a afecção se manifesta nos membros pélvicos, causando quadros de impotência funcional motora grave (THOMASSIAN, 1996). Estes potros parecem normais, porém na medida em que crescem, a conformação se torna inadequada, até o ponto de não conseguirem se manter em estação (JOHNSON, 1973).

O desenvolvimento destas afecções está na sua grande maioria relacionada a algum processo relacionado à dor. Qualquer processo que cause dor em um membro irá iniciar um reflexo de flexão para a retirada do membro do solo, o que resulta em uma contração da musculatura flexora e posição alterada da articulação. A dor pode se originar decorrente à uma série de afecções, tais como, artrites, fisites, osteocondrite dissecante, ferimentos nos tecidos moles ou infecções dos cascos (ADAMS e SANTSCHI, 1999).

As causas dessas deformidades podem ser uni ou multifatoriais para o surgimento da afecção. A predisposição genética ao rápido crescimento ósseo, manejo inadequado, hereditariedade, nutrição inadequada causada por desequilíbrio dietético mineral ou por ingestão excessiva de alimentos, dor causada por outros distúrbios do esqueleto, e falta de exercício, foram as principais causas implicadas (WAGNER, 1994). Este tipo de deformidade é observado mais frequentemente em potros entre 6 semanas e 8 meses de idade, principalmente em animais com crescimento muito rápido ou com uma dieta desbalanceada. Os sinais clínicos podem ser variados, observando um aumento do ângulo formado entre a parede dorsal do casco e o chão na região de contato com a sola, projeção dorsal da região supra-coronária, aumento da altura dos talões em comparação com o tamanho da pinça e falta de contato dos talões com o solo após casqueamento (ADAMS e SANTSCHI, 1999).

Segundo Thomassian (1996), estas deformidades podem ser classificadas da seguinte maneira:

Grau I: Ocorre discreta elevação do talão com tensão aumentada no tendão flexor digital profundo. A muralha do casco tende à perpendicularização em relação ao eixo podofalangeano-solo. O ângulo metacarpo-falangeano permanece inalterado.

Grau II: A muralha do casco adquire completa perpendicularidade em relação ao eixo podofalangeano-solo, com crescimento anormal dos talões e tendência ao encastelamento. Ocorre desgaste da pinça.

Grau III: Observa-se evidente projeção cranial da muralha podendo até, nos casos mais graves, onde o ligamento suspensor do boleto participa do processo da contratura, ocorrer o apoio da região cranial das articulações interfalangeanas no solo.

SINAIS CLINICOS

Alguns potros podem nascer com quadros leves de deformidade flexural metacarpo-falangeana, causando discreta flexão que se resolve dentro das primeiras horas de vida. Geralmente nesses casos a deformidade flexural é bilateral, ou acomete os quatro membros. A alteração decorrente do tendão flexor digital superficial resulta em posicionamento vertical das articulações metacarpo-falangeana e interfalangeana proximal. Se o tendão flexor digital profundo também apresentar alteração, os talões também sofrerão elevação. Em casos graves, a articulação metacarpo-falangeana não poderá ser manualmente estendida (WAGNER, 1994).

Potros recém-nascidos apresentando deformidade em região interfalangeana distal poderão apresentar apoio do membro somente na região das pinças dos cascos ou na região dorsal do mesmo. As deformidades das articulações metacarpo ou metatarso-falangeanas poderão algumas vezes impedir que o animal se mantenha em estação. Casos mais brandos poderão passar despercebidos, até que o potro tente erguer-se. O prognóstico na deformidade flexural metacarpo-falangeana é geralmente favorável quando comparado à deformidade flexural carpiana (WAGNER, 1994).

Os tendões flexores digitais superficial e profundo podem estar acometidos possibilitando diferentes graus de deformidades, que podem variar desde a discreta projeção cranial da articulação metacarpo-falangeana, em casos muito graves a projeção cranial da articulação é tão acentuada que o animal utiliza como apoio e locomoção, com graves prejuízos aos tecidos (THOMASSIAN, 1996).

De modo geral, tanto o tendão flexor digital superficial quanto o profundo estarão envolvidos. O comprometimento de apenas o tendão flexor digital profundo pode se manifestar como uma deformidade flexora da articulação metacarpo-falangeana (ADAMS e SANTOSCHI, 1999).

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico baseia-se na apresentação clínica do processo, e na existência de fatores etiológicos ou predisponentes. Nos graus de deformidades mais graves, os exames radiográficos e ultrassonográficos permitem que se avalie o nível de comprometimento de componentes articulares que podem interferir nos resultados



dos tratamentos a serem instituídos, assim como a evolução das alterações que puderem ser diagnosticadas. As alterações secundárias mais importantes localizam-se nos ossos e articulações, que variam desde osteítes e osteoperiostites até artrite infecciosa por ação exógena (THOMASSIAN, 1996).

As características demonstradas por potros com deformidades flexurais facilitam o diagnóstico em muitos casos. Para uma boa técnica de diagnóstico, a região acometida deve ser palpada e manipulada com o animal sustentando o peso, e com o membro em flexão. Em muitos casos são encontradas várias anormalidades ou simplesmente a diminuição de mobilidade da articulação acometida ou da região articular. A resistência à extensão juntamente com a palpação do aparelho flexor é um bom indicador para o prognóstico e poderá auxiliar na indicação do tratamento para o potro. A palpação dos tendões flexores durante a manipulação pode auxiliar na determinação de quais estruturas estão envolvidas. Em grande parte dessas afecções ambos os tendões flexores digitais superficial e profundo, e algumas vezes o ligamento suspensor do boleto, estão envolvidos (THOMASSIAN, 1996).

A avaliação radiográfica tem sido indicada como um ótimo meio de diagnóstico para determinar a existência de alterações ósseas associadas e a melhor técnica para um tratamento mais eficaz (AUER, 1992).

TRATAMENTO

O tratamento conservativo tem um papel muito importante para casos leves. O princípio básico do tratamento é a extensão forçada do membro para induzir o reflexo miotático inverso e conseqüente relaxamento dos músculos flexores (STASHAK, 1994).

O tratamento inclui a imobilização com tala e suporte do membro com ferrageamento corretivo. O potro e a égua devem ser mantidos em áreas maiores facilitando e estimulando a locomoção, o que acelera o processo de recuperação. A dieta deve ser limitada ao pastejo ou oferta de volumosos, além dos cascos serem grosados duas vezes por semana até mostrarem melhora do posicionamento. Após um mês de tratamento, já podem ser observadas melhoras consideráveis (OWEN, 1975).

A melhor resposta ao tratamento conservativo ocorre quanto mais cedo o animal for diagnosticado e tratado, aumentando as chances de resolver a afecção



sem a indicação cirúrgica. Este tratamento pode ser iniciado assim que diagnosticado a deformidade e o clínico estiver certo que o tratamento clínico é o mais indicado. A colocação de uma tala no membro acometido deve ser confortável para o potro e retirada para descanso a cada 3 horas. A circulação pode ser prejudicada nesta região se a tala usada estiver muito longa ou apertada (JOHNSON, 1973).

Quando empregado o uso de talas, o clínico deve tomar grande cuidado em relação à indução de feridas por compressão. As talas devem ser utilizadas por curtos períodos, sendo programadas para serem mantidas por 4 a 6 horas. Os gessos também são muito aplicados, uma vez que podem estabilizar o membro por períodos mais longos acelerando o processo de correção do ângulo da articulação, além de prevenir e diminuir os riscos de feridas por compressão (HUNT, 2003). As talas podem ser feitas a partir de tubos de PVC e também moldadas com calor, para assumirem a conformação desejada. Durante o apoio do peso no membro, são constantemente aplicadas forças de tensão nas unidades flexoras, induzindo o relaxamento flexor, tendo o máximo cuidado para não fazer uma pressão exacerbada e criando injúrias aos tecidos adjacentes. (GREET e CURTIS, 2003; STASHAK, 1994). Este tipo de tratamento causa o relaxamento das unidades musculotendíneas em pouco tempo (10 a 14 dias), facilitando a resolução do problema.

O período de permanência do gesso no animal deve ser de no máximo 14 dias, para permitir o crescimento ósseo. Esse tratamento com base na imobilização pode ser associado a administração endovenosa de oxitetraciclina, especialmente em casos mais graves, de deformidades severas de carpo (ADAMS, 1990; AUER, 1992). Quando se consegue o posicionamento desejado do membro após a utilização das talas ou gesso, o animal deverá ser exercitado diariamente, possivelmente com a associação de fármacos anti-inflamatórios, para manutenção da mobilidade adquirida (GREET e CURTIS, 2003 e STASHAK, 1994)

Em casos muito intensos de deformidades, deve-se assegurar que o animal seja mantido em local seguro e com piso macio, para prevenir lesões de tecidos moles e parede dorsal dos cascos por impacto contra o solo (AUER, 1992). A aplicação de prolongamentos de placas metálicas e acrílicas na pinça do casco impede e protege contra o impacto sobre o solo, além de induzir ao alongamento do tendão flexor digital profundo durante a movimentação do membro. Estes

prolongamentos podem ser aplicados com sucesso em potros com deformidade leve da articulação metacarpo-falangeana, onde os potros não podem sustentar o peso sobre o membro sem projetar a articulação em sentido dorsal. Após o potro conseguir sustentar o apoio sobre o membro, a deformidade é aliviada em aproximadamente duas semanas. Nesta fase, os prolongamentos devem ser removidos (AUER, 1992).

Altas doses de oxitetraciclina têm sido usadas com sucesso para o tratamento de deformidades flexurais. A oxitetraciclina é utilizada uma vez ao dia, ou a cada dois dias, perfazendo um total de três a quatro aplicações (ADAMS e SANTSCHI, 1999; HUNT, 2003). Podem ocorrer complicações deste tratamento devido ao uso de sobre doses ou por uso prolongado de tempo: os principais sintomas incluem insuficiência renal, diarreia, e mais comumente, relaxamento excessivo de outras articulações normais. O protocolo recomendado por Kasper *et al.*, (1995) e Lokai (1992) é a administração de 3 g de oxitetraciclina, por via intravenosa, em dose única ou duas doses com intervalo de 24 horas. Esta dose é equivalente a 70mg/kg, considerando potros com 45 kg, dose bem mais alta que a usada para tratamento de infecções bacterianas. Tem se postulado que a oxitetraciclina é capaz de quelar os íons de cálcio livres e prevenir o influxo do mesmo nas fibras musculares, induzindo o relaxamento muscular (AUER, 1992; EMBERTSON, 1994). Essa terapia não é eficaz em casos de deformidade adquirida ou de deformidade congênita severa (LOKAI, 1992).

O uso de anti-inflamatórios não esteroides vão auxiliar no tratamento (ADAMS, 1990). O uso desses fármacos vai otimizar a recuperação, diminuindo a dor e aumentando a utilização do membro. (ADAMS e SANTSCHI, 1999). Estes fármacos são indicados no combate à dor induzida pelo alongamento dos tecidos moles contraídos causados pela sustentação do peso, imobilizações ou gesso, ou exercícios de alongamento passivo (EMBERTSON, 1994).

As cirurgias para a correção das deformidades flexurais são utilizadas principalmente naqueles casos com graus muito fortes ou que o tratamento suporte e medicamentoso não obtiveram sucesso. Os procedimentos incluem a tenotomia dos tendões flexores digitais superficiais e profundo, ou a desmotomia dos acessórios dos tendões flexores digitais profundos (ADAMS; SANTSCHI, 1999).

A técnica cirúrgica pode ainda ser associada às terapias não cirúrgicas, como uso de talas, gesso, fisioterapia, ferrageamento com prolongamento das pinças

(ADAMS, 1990). A desmotomia do acessório distal do tendão flexor digital profundo pode ser usada como tratamento da deformidade induzida pela alteração do mesmo e foi introduzida por Lysholt e Sonnichsen em 1969. Este procedimento cirúrgico mostra alta taxa de recuperação em todas as raças nos casos de deformidades flexurais interfalangeanas e evita consideravelmente os riscos associados com a secção do tendão flexor digital profundo, além de não ser necessária a associação com o ferrageamento corretivo (SONNICHSEN, 1982).

Subluxação e hiperextensão da articulação interfalangeana proximal e da articulação metacarpo-falangeana pode ser causada pela transecção do ligamento suspensório (ADAMS *et al.*, 1992). Deformidades flexurais específicas irão determinar o adequado procedimento cirúrgico. Não é recomendada a transecção dos tendões flexores ou do ligamento suspensor do boleto em animais que futuramente irão desenvolver atividades atléticas. A artrodese pode ser o tratamento de escolha para animais com deformidades flexurais com marcada flexão e anormalidades ósseas (ADAMS e SANTACHI, 1999).

Alguns casos de transecção do ligamento palmar e das cápsulas média cárpica e antebraquiocárpica têm sido relatados em casos de deformidades carpianas. O canal cárpico é aberto pelo acesso medial. As articulações são identificadas e subsequentemente liberadas por meio de uma incisão horizontal de medial a lateral. Ainda não foram citados resultados satisfatórios (AUER, 1992).

Em casos graves, a transecção dos tendões, ligamentos e estruturas periarticulares pode ser realizada como último procedimento na tentativa de liberar o movimento da articulação envolvida. Normalmente, os membros não podem ser estendidos antes da incisão da cápsula articular (ADAMS, 1990). Pode ser necessária a utilização de um fixador externo para a indução de uma artrodese (ADAMS, 1992). Casos severos de deformidades flexurais que envolvam as articulações interfalangeana proximal e metacarpo-falangeana, devido ao prognóstico pobre para o restabelecimento da função total do membro, raramente são tratados (ADAMS, 1992). Em casos severos de deformidade carpiana, a correção cirúrgica pode ser feita por meio da secção do tendão flexor carpo-ulnar e do tendão flexor ulnar lateral. Para isso é necessária a incisão palmar da fibrocartilagem do carpo. O prognóstico para esses casos é reservado (GREET e CURTIS, 2003).

RELATO DOS CASOS

CASO 1

Uma potra da raça campolina, 280 kg, 24 meses de idade, de uma propriedade situada na zona rural de Reduto-MG, foi referida com queixa principal de acentuada deformidade flexural da articulação do boleto dos membros torácicos de origem e início desconhecidos. À inspeção e em dinâmica, o animal apresentou uma alteração acentuada no ângulo das articulações metacarpofalangeanas com projeção dorsal o que comprometia de forma importante a sua deambulação. À palpação foi possível avaliar a tensão dos componentes relacionadas ao problema e verificou-se que os TFDP apresentavam tensão excessiva, estando os TFDS relativamente frouxos, mesmo forçando-se a extensão máxima dos membros. O proprietário relatou que diversos tratamentos conservativos foram instituídos com a administração de vários ciclos de Oxitetraciclina via endovenosa, colocação de talas, casqueamento e ferrageamento corretivos, sem nenhum sinal de melhora dos sinais clínicos. Sendo assim, o tratamento cirúrgico foi indicado.

A técnica cirúrgica indicada foi a desmotomia do LADTFDP e tenotomia no TFDP à altura do terço médio do metacarpo, em ambos os membros torácicos. O animal foi preparado segundo as técnicas de cirurgia asséptica e o procedimento realizado em decúbito lateral esquerdo. Realizou-se tranquilização com acepromazina 1% (0,05mg/kg, IV), sedação com detomidina 1% (0,01mg/kg, IV). Indução anestésica com Cetamina 10% (2mg/kg, IV) Após indução, a manutenção anestésica foi feita por administração intravenosa total em infusão contínua (1-2 ml/kg/h) de solução de Éter Gliceril Guaicol (25g), Xilazina 10% (0,5g) e Cetamina 10% (1g) diluídos em 500 ml de soro Ringer Lactato. Duas incisões de pele aprofundadas até o subcutâneo e fáscia profunda foram realizadas sobre TFDP para sua exposição. As incisões de aproximadamente 5 centímetros localizaram-se no terço proximal dos metacarpos esquerdo face medial e direito face lateral. Através de dissecação romba com tesoura de Metzenbaum curva, o tendão TFDP foi identificado em ambos os membros. Após exploração cirúrgica foi possível identificar o TFDP e o LADTFDP. Foi realizada a dissecação do TFDP do LADTFDP para a exposição do LADTFDP. Introduziu-se uma tesoura de Mayo curva entre o TFDP e o LADTFDP com objetivo de deixá-lo em evidencia para a realização da incisão com o bisturi. Após a realização da técnica foi feito um teste de extensão da articulação

metacarpo-falangeana para avaliar a eficácia do procedimento. Porém houve apenas uma discreta melhora na extensão articular. Devido aos resultados insatisfatórios optou-se por realizar a tenotomia do TFDP com obtenção de uma melhora significativa. Procedeu-se então redução do espaço morto com sutura simples contínua com fio Ácido Poliglicólico 2-0 e dermorrafia por pontos simples interrompidos com fio de náilon 2-0 nas duas incisões. Imediatamente após a cirurgia observou-se melhora significativa do ângulo da articulação afetada. Durante o período pós-operatório o animal foi mantido em baia com o uso de talas para imobilização e para manter uma tensão apropriada sobre a articulação por cinco dias. Após uma semana de recuperação houve melhora significativa da condição.

CASO 2

A segunda potra referida, também da raça campolina, 250 kg, 26 meses de idade, da mesma propriedade que a anterior, também apresentou acentuada deformidade flexural das articulações metacarpo-falangeanas de origem e início desconhecidos, com projeção dorsal ainda mais grave que o primeiro caso. À palpação foi possível avaliar a consistência dos componentes relacionadas ao problema e verificou-se que os TFDP estavam muito tensos em relação aos TFDS com os membros em extensão. Foram empregadas as técnicas cirúrgicas de desmotomia do LADTFDP e tenotomia do TFDP. Os procedimentos cirúrgicos e pós-operatórios foram realizados no animal exatamente da mesma forma como descritos no primeiro caso. No período pós operatório imediato, observou-se significativa melhora no ângulo articular e na postura do animal. Casqueamento corretivo foi também empregado, objetivando-se o balanceamento dos talões e desgaste do excesso das pinças dos cascos.

CASO 3

A terceira potra, da raça Quarto de Milha, 180 kg, 8 meses de idade, de uma propriedade situada na zona rural de Caratinga-MG, foi referida com queixa principal de acentuada deformidade flexural das articulações metacarpo-falangeanas e das articulações interfalangeanas distais dos membros pélvicos. À inspeção e em dinâmica o animal apresentou uma alteração no ângulo das articulações do boleto com projeção dorsal nos membros torácicos. Nos membros pélvicos observou-se

uma hiperflexão da AID que impossibilitava o apoio dos cascos no solo, levando o animal a apoiar-se apenas sobre as pinças dos cascos. Houve também tentativas sucessivas do emprego de Oxitetraciclina como tratamento conservativo, porém sem sucesso, sendo indicada a abordagem cirúrgica. Para os membros torácicos, tendo em vista a menor intensidade da afecção, indicou-se a desmotomia do LADTFDP, realizada através de incisão de pele de cinco centímetros no terço proximal dos metacarpos direito (face lateral) e esquerdo (face medial), aprofundada pelo subcutâneo até a fáscia profunda, seguida de dissecação romba com tesoura Metzenbaum curva para exposição do LADTFD, que foi posteriormente seccionado com bisturi. Logo após o retorno anestésico, percebeu-se evidente melhora na angulação das articulações metacarpo-falangeanas do animal.

Para a resolução da contratura dos membros pélvicos, tentou-se em primeiro momento a tenotomia da cabeça medial do TFDP, técnica indicada para o alívio da tensão no referido tendão principalmente nos casos de subluxação dorsal da articulação interfalangeana proximal, contudo apenas com discreta melhora dos sinais clínicos, permanecendo o animal ainda incapaz de apoiar os talões dos membros pélvicos no solo. Quinze dias após os primeiros atos operatórios, realizou-se a tenotomia do TFDP nos membros pélvicos do animal, desta vez conseguindo-se remissão dos sinais clínicos imediatamente após o retorno anestésico. Para ambos os procedimentos anestésicos o animal foi preparado segundo as técnicas de cirurgia asséptica e os procedimentos realizados em decúbito lateral. O protocolo anestésico empregado foi exatamente igual ao descrito no primeiro caso.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Todos os três casos de contratura músculo-tendínea descritos foram diagnosticados ainda com os animais em idade variando entre 7 a 18 meses, pois as deformidades flexurais adquiridas ocorrem mais frequentemente na fase de desenvolvimento, sendo identificadas facilmente. Todos os animais do relato foram tratados com dietas ricas em carboidratos e proteínas, o que pode predispor a um crescimento rápido, além de terem sido mantidos confinados em baias durante sua fase de crescimento, sendo estes fatores predisponentes para o desenvolvimento de

deformidades flexurais adquiridas, concordando com Szczurek *et al.*, (1988) e Stashak (2006).

O segundo caso relatado era mais intenso em relação ao primeiro, apresentando o animal uma flexão dorsal do boleto ainda mais acentuada. Após a desmotomia do LADTFDP e tenotomia do TFDP, os animais dos casos 1 e 2 apresentaram resultados significativos com melhora imediata, porém o primeiro caso apresentou ainda melhores resultados, observado clinicamente por uma angulação do boleto mais próxima da normalidade. Sabe-se que os melhores resultados das intervenções cirúrgicas para o tratamento das deformidades flexurais adquiridas são relacionadas à precocidade da intervenção, recomendando-se um limite de 18 meses de idade para melhores prognósticos. Talvez este fator, além da intensidade das afecções, tenha sido relacionado ao resultado menos consistente do segundo caso.

O terceiro caso apresentou uma particularidade de o animal ter passado por dois procedimentos anestésicos, em datas diferentes para a obtenção de um resultado satisfatório. No primeiro momento foram realizadas a tenotomia da cabeça medial do TFDP nos membros pélvicos e a desmotomia do LADTFDP nos membros torácicos. A melhora da angulação das articulações do membro torácico foi percebida imediatamente após a cirurgia, mostrando-se o procedimento bastante efetivo na correção do problema. Contudo, a indicação da tenotomia da cabeça medial do TFDP nos membros pélvicos não demonstrou apenas resultados parciais, com discreta melhora dos sinais clínicos. Tal fato pode estar relacionado com a intensidade da afecção, que apresentava-se em estágio 2, com o ângulo da muralha do casco acima de 90 graus em relação ao solo. Após a segunda intervenção (tenotomia do TFDP bilateral nos membros pélvicos) observou-se resolução definitiva da deformidade flexural. Acredita-se que a não remissão dos sinais clínicos nos membros pélvicos após a primeira intervenção deveu-se unicamente à intensidade da deformidade da AID, que necessitou de uma liberação total das tensões transmitidas à terceira falange pelo TFDP para seu retorno à posição de normalidade. O casqueamento corretivo, com desgaste dos talões e conservação das pinças dos cascos também é fundamental nesses casos de deformidade flexural, não devendo ser negligenciado.

De acordo com Stashak (2006) a intervenção cirúrgica imediata é indicada na apresentação inicial das deformidades flexurais para uma correção rápida e

consequentemente prevenção do desenvolvimento de lesões articulares degenerativas permanentes. Após a avaliação dos resultados obtidos nos três casos, pode-se afirmar com segurança que a intervenção precoce, mesmo tratando-se de casos intensos de deformidades flexurais, apresenta resultados muito mais consistentes do que a intervenção em animais que apresentem idade mais avançada.

O protocolo anestésico empregado nos três casos foi suficiente para a realização dos procedimentos com segurança a campo, com a manutenção dos parâmetros vitais dos animais dentro das faixas de normalidade. Não houve necessidade de administração de fármacos de emergência ou outro fármaco com propriedades sedativas ou dissociativas em forma de bólus. Nenhuma intercorrência perioperatória relacionada a anestesia foi observada, sendo que todos os animais recuperaram-se da anestesia em até 30 minutos após o término do procedimento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas cirúrgicas empregadas para o tratamento das deformidades flexurais adquiridas nos animais do estudo mostram-se efetivas para a solução dos problemas e mais eficientes que as abordagens conservativas nos casos relatados, além de terem se mostrado seguras para execução a campo, já que não foram observadas intercorrências que restringissem sua indicação.

REFERÊNCIAS

ADAMS, B. S.; AIKEN, S. W.; PARKER, J. E.; PROSTREDNY, J. M.; TOOMBS, J. P.; WHITEHAIR, K. J.; WHITEHAIR, J. G. Arthodesis for congenital flexural deformity of the metacarpophalangeal and metatarsophalangeal joints. **Veterinary Surgery**, v. 21, n. 3, p. 228-233, 1992.

ADAMS, B. S.; SANTSCHI, E. M. **Management of flexural limb deformities** in: young horses. *Equine Practice*, v. 21, n. 2, p. 9-15, 1999.

ADAMS, R. Noninfectious orthopedic problems. In: KOTERBA, A. M.; DRUMMOND, W. H.; KOSCH, P. C. *Equine clinical neonatology*. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 355-366, 1990.

AUER J. A. **Flexural deformities**. In: Auer J. A., ed. *Equine Surgery*. Philadelphia, PA:W.B. Saunders Company; p. 957-971;1992.

EMBERTSON, R. M. Congenital abnormalities of tendons and ligaments. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 10, n. 2, p. 351-364, 1994.

REET, T. R. C.; CURTIS, S. J. **Foot management in young animals with flexural limb deformities**. *Veterinary Clinics Equine*, v. 19, p. 501-517, 2003.

HUNT, R. J. **Flexural Limb Deformity in foals**. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. J. *Diagnosis and management of lameness in the horse*. Philadelphia: Saunders, p. 562-565, 2003.

JANSSON, N.; SONNICHSEN, H. V. **Acquired flexural deformity of the distal interphalangeal joint in horses: treatment by desmotomy of the accessory ligament of the deep digital flexor tendon**. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 15, n. 8, p. 353-356, 1995.

JOHNSON, J. H. **Contractes tendons**. *Modern Veterinary Practice*, v. 1, p. 67-69, 1973.

KASPER, C. A.; CLAYTON, H. M.; WRIGHT, A. K.; SKUBA, E.V.; PETRIE, L.. **Effects of high doses of oxytetracycline on metacarpophalangeal joint kinematics in neonatal foals**. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 207, n. 1, p. 71-73, 1995.

LOKAI, M. D. **Case selection for medical management of congenital flexural deformities in foals**. *Equine Practice*, v. 14, n. 4, p. 23-25, 1992.

MATTHIESSEN, P. C. W. Case selection and management of flexural limb deformities in horse: congenital flexural limb deformities, Part 2. **Equine Practice**, v 16, n. 1, p. 7-11, 1994.

MCLLWRAIT, W. C. *et al.* **Developmental Orthopedic**. Disease: Problems of Limbs in Young Horses. Disponível em <<http://csu-cvmbbs.colostate.edu>> Acesso em 23 de Ago. 2013

MCLLWRAIT, W. C.; ROBERTSON, J. T. **Equine Surgery – Advanced Techniques**. 2.ed. [S.l.:s.n.], 1998.

OWEN, J. M. **Abnormal flexion of the corono-pedal joint or “contracted tendons”** in unweaned foals. *Equine Veterinary Journal*, v. 7, n. 1, p. 40-45, 1975.

SONNICHSEN, H. V. Subcarpal check ligament desmotomy for the treatment of contracted deep flexor tendon in foals. *Equine Veterinary Journal*, v. 14, n. 3, p. 256-257, 1982.

STASHAK, T. **Doenças das articulações, tendões, ligamentos e estruturas relacionadas**. In: *Claudicação em eqüinos segundo*. 4. ed. São Paulo: Roca, 1994. p. 465-478, 1994.

STASHAK, T. **Claudicação em Equinos**. 5.ed. São Paulo: Roca, 2006.

THOMASSIAN, A. **Deformidades flexurais dos membros**. In: _____. *Enfermidades dos cavalos*. 3. ed. São Paulo: Varela, 1996. p. 165-179.



SZCZUREK, E.M. *et al.* **Influence of confinement, plane of nutrition and low heel on the acquired, forelimb contracture in weanling horses.** *Equine Nutrition e physiology society.* Vol.8, n.5. pág.386-392,1988.

WAGNER, P. C. **Deformidades flexurais dos membros** (contraturas tendinosas). In: SMITH, B. P. *Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais.* São Paulo: Manole, 1994. p. 1172-1176.

WYN-JONES, G.; PEREMANS, K. Y.; MAY, S. A. **Case of quadrilateral flexural contracture in a 10-year-old pony.** *The Veterinary Record,* n. 29, p.685-687, 1985.



AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CRIOPROTETORES PARA CONGELAMENTO DE SÊMEN DE GARANHÕES DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR

Acadêmico: Thiago Braga Portes

Orientador: Bruna Waddington de Freitas

RESUMO

A criopreservação de sêmem é considerada hoje umas das biotecnologias da reprodução mais difundida e eficiente em termos de ganho genético. Apesar de seu uso já vir sendo realizado com sucesso no sistema de produção de bovinos, na espécie eqüina sua utilização se encontra ainda limitada, devido à baixa taxa de fertilidade que essa técnica trás ao sistema de criação de equinos. Essa redução da taxa de fertilidade está ligada a efeitos deletérios na membrana plasmática e na morfologia espermática. No processo de criopreservação do sêmem são utilizados crioprotetores que visam minimizar esses efeitos deletérios sobre os espermatozóides, sendo assim existe uma linha de pesquisa em busca do melhor crioprotetor ou associações de crioprotetores aumentando assim a taxa de fertilidade dessa biotecnologia na espécie eqüina.

PALAVRAS-CHAVE: criopreservação; dimetilformamida; garanhões; glicerol; sêmen.

INTRODUÇÃO

O crescimento e difusão da equinocultura nacional tem proporcionado cada vez mais, aos grandes criadores, animais de alto padrão zootécnico. Com isso, a demanda pela utilização do sêmen congelado assume importância primordial, visto que se trata da biotecnologia mais difundida e eficiente em termos de ganho genético. Porém, embora o sêmen criopreservado venha sendo utilizado ao longo das últimas décadas no sistema de produção de bovinos, em equinos a sua utilização permanece limitada em função da baixa fertilidade nessa espécie. Tal redução na taxa de fertilidade verificada após o processo de congelamento/descongelamento se deve principalmente aos danos causados ao funcionamento e às estruturas das membranas das células espermáticas (PARKS; GRAHAM, 1992).

A composição dos diluidores utilizados no processo de criopreservação de sêmen equino apresenta relação direta com os resultados obtidos tanto *in vitro* quanto *in vivo*, sendo, portanto, um dos gargalos nas pesquisas voltadas para a biotecnologia do sêmen. Tais estudos são especialmente importantes para o desenvolvimento de meios de congelamento para animais da raça Mangalarga Marchador, historicamente classificado como mau congelador de sêmen (OLIVEIRA *et al*, 2013).

Embora imprescindíveis para a sobrevivência dos espermatozóides no processo de congelação, os crioprotetores possuem efeitos tóxicos para o espermatozóide, tornando algumas substâncias utilizadas na criopreservação de outros tipos celulares impróprias para a célula espermática (WATSON, 2000). Em elevadas concentrações, os crioprotetores podem reduzir a capacidade fertilizante deste gameta devido à lesão por danos osmóticos (GRAHAM, 1996). Com isso, a diluição dos crioprotetores pós-descongelamento pode ser vista como uma alternativa para redução da toxicidade celular.

O objetivo a ser alcançado com o presente estudo é avaliar diferentes crioprotetores para o congelamento de sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador, diluídos ou não após o descongelamento, com relação à viabilidade espermática *in vitro*, efeitos na membrana plasmática e morfologias espermáticas.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A utilização de crioprotetores durante o processo de congelamento seminal visa à promoção da desidratação celular, objetivando minimizar a formação de gelo intracelular na célula espermática e permitindo que a célula se re-hidrate adequadamente durante o descongelamento. Para tanto, o crioprotetor ideal deve apresentar baixo peso molecular, alta solubilidade em meio aquoso e principalmente, baixa toxicidade celular (NASH, 1966).

Os agentes crioprotetores são classificados em permeáveis e não permeáveis (ROWE, 1966). Os não permeáveis são representados por macromoléculas com alto peso molecular, tais como os açúcares, lipoproteínas da gema do ovo, proteínas do leite e alguns aminoácidos, substâncias responsáveis por um mecanismo de proteção no meio extracelular (AMANN e PICKETT, 1987).

Os crioprotetores permeáveis exercem seu mecanismo de ação tanto no meio extracelular, quanto no meio intracelular, e com isso desempenham importante função durante a criopreservação. São substâncias com propriedades coligativas específicas, sendo a sua ligação com a molécula de água com características próprias. Durante o processo de congelamento o crioprotetor permeável limita a formação, retarda a expansão dos cristais de gelo e reduz as concentrações de soluto no meio extra e intracelular (NASH, 1966). Ashwood-Smith (1987) listou diferentes componentes, tais como os álcoois - etanol, etilenoglicol, glicerol, metanol, polietilenoglicol, dimetilsulfóxido - e também as amidas. Dentre essas, a

dimetilformamida pode ser usada como agente crioprotetor para o congelamento seminal.

Lovelock e colaboradores (1954) propuseram que o glicerol atue protegendo as células espermáticas dos efeitos nocivos da solução super saturada durante o processo de congelamento, devido ao seu mecanismo de ação (propriedades coligativas), depressão do ponto de congelamento e a conseqüente queda da concentração de eletrólitos das frações não congelada da solução. Apesar das amidas apresentarem três sítios de ligação de hidrogênio com a molécula de água (metade em comparação ao glicerol), elas possuem menor viscosidade e solubilidade à água em relação ao glicerol, o que permite maior permeabilidade de membrana (NASH, 1966), diminuindo a possibilidade de danos celulares por estresse osmótico causado pelos crioprotetores (BALL; VO, 2001).

Nos mamíferos, o congelamento e descongelamento de sêmen levam a um decréscimo na porcentagem de espermatozóides viáveis devido aos danos produzidos nas membranas (HAMMERSTEDT *et al.*, 1990).

Um dano freqüentemente encontrado nos espermatozóides pós-descongelamento é a perda da integridade e funcionalidade da membrana, o que reflete diretamente na sobrevivência e capacidade de fertilização destes gametas (HENRY *et al.*, 2002).

Para que o espermatozóide fecunde o ovócito, são necessários, pelo menos, alguns atributos após o descongelamento, como metabolismo do espermatozóide para a sua produção de energia, motilidade progressiva, enzimas acrossomais íntegras, que são de extrema importância para a penetração do ovócito, e proteínas de membrana plasmática, fundamentais para a sobrevivência do espermatozóide no trato reprodutivo feminino e para a ligação do mesmo com a membrana do ovócito durante a fertilização (AMANN e PICKETT, 1993).

A membrana plasmática é composta por uma dupla camada lipídica, que contém fosfolípidos, colesterol, glicolípidos e proteínas do tipo periféricas e integrais (OLLIVIER e GALL, 1993). Os fosfolípidos estão dispostos de duas maneiras, a fase polar sendo a mais externa hidrofílica, e a fase apolar a interna hidrofóbica. As proteínas periféricas são facilmente removidas, solúveis no sêmen e na água. As proteínas integrais não são removidas com facilidade da membrana plasmática, precisando de solventes ou detergentes para ser removidas (WATSON, 1981). O transporte de moléculas para dentro da membrana plasmática ocorre

através de poros ou canais formados pelas proteínas. Em regiões da membrana em que não há poros ou canais, o transporte de moléculas é pouco ou nulo. Na fase de resfriamento, pode ocorrer um desarranjo na conformação da membrana plasmática, levando a uma desorganização nas cadeias de fosfolipídeos e proteínas, resultando, assim, numa passagem rápida de moléculas pela membrana, que passariam de uma forma lenta (AMANN e PICKETT, 1987)

A membrana plasmática é fluida à temperatura corporal. Sua fluidez é a capacidade de movimentação lateral de seus fosfolipídeos. Alguns fatores podem alterar a fluidez e flexibilidade de membrana, como o resfriamento (AMANN e PICKETT, 1987).

É durante o período de resfriamento (20°C e 5°C) que mudanças irreversíveis ocorrem à membrana plasmática dos espermatozóides, devido à ruptura e às perdas de seus arranjos celulares (QUINN *et al.*, 1980; WATSON, 1995). É nessa fase de transição que ocorre passagem da membrana plasmática do estágio líquido para o estágio cristalino (gel), sendo essa fase determinada como o principal entrave no sucesso da congelação (WATSON, 1995).

Uma das questões importantes relacionadas com a eficiência das técnicas de criopreservação é a velocidade de redução da temperatura durante o congelamento. O tipo de curva utilizada no congelamento tem influência direta no grau de lesões celulares, devido a processos de desidratação e formação de cristais de gelo intracelulares (MOORE *et al.*, 2006).

Quando a temperatura de resfriamento se encontra entre - 5°C a - 10°C, começam a se formar cristais de gelo no meio extra celular que permanece super resfriado (não cristalizado), levando a saída de água das células para manter o equilíbrio entre o meio extra e intracelular ocasionando a desidratação das células. A curva de congelamento neste ponto do processo de resfriamento deve ser lenta para evitar a congelação da água intracelular e rápida o suficiente para evitar o contato da célula desidratada com o meio hiperosmótico. Uma desidratação severa promove a desnaturação das macromoléculas e encolhimento excessivo da célula até ocorrer um colapso da membrana demonstrando que o uso de curvas de congelação adequadas podem minimizar estes danos (HOLT, 2000).

Por isso diversos estudos vêm demonstrando a importância da curva de congelação na manutenção da integridade celular, pois se ela for muito rápida, não há tempo para que ocorra a desidratação dos espermatozóides, ocorrendo assim a

formação de gelo intracelular, que é prejudicial à célula. E nos casos que se utiliza curva de congelação lenta, haverá a desidratação dos espermatozóides impedindo a formação de gelo intracelular, porém a alta concentração de solutos também pode causar danos à célula (WATSON, 1995).

O processo de descongelação depende diretamente do processo de congelamento. Se a congelação foi lenta, a descongelação também deverá ser lenta para permitir a fusão dos cristais de gelo extracelulares. A descongelação destes cristais provoca diluição dos solutos e lentamente ocorre a reidratação das células. Se o sêmen for descongelado rapidamente os cristais extracelulares iram se descongelar muito rápido e a água ira invadir as células bruscamente levando ao ingurgitamento e danos à membrana plasmática (HOLT, 2000).

Se o sêmen tiver sido congelado rapidamente, os espermatozóides não terão tido tempo para sofre uma desidratação e com isso conforme o gelo extracelular vai derretendo, não haverá grande influxo de água para dentro da célula, devendo então ser descongelado rapidamente de modo que o gelo intracelular que se formou durante a congelação não tenha tempo para recrystalizar (AMANN e PICKETT, 1987).

MATERIAL E MÉTODOS

Garanhões

Foram utilizados 4 garanhões com diferentes idades (3 a 15 anos), da raça Mangalarga Marchador, considerados hígidos, aprovados no exame andrológico e com características seminais adequadas ao processo de congelamento, segundo pré-requisitos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (1998).

Coleta e avaliação imediata de sêmen

Os garanhões foram submetidos a cinco coletas de sêmen, em dias alternados, utilizando vagina artificial (modelo Botucatu). Antes do início da maratona de congelamento, cada reprodutor teve sua reserva espermática extra-gonádica esgotada por meio de coletas diárias, por cinco dias consecutivos, seguido por um intervalo de dois dias de repouso sexual.

Após a coleta, foi retirada por filtração a fração gel do ejaculado e a avaliação imediata foi realizada, considerando o aspecto, coloração, volume, concentração, motilidade total e vigor espermáticos. O volume foi aferido em proveta graduada de

250 mL, previamente aquecida a 37° C. A motilidade (%) e o vigor (0 - 5) espermáticos foram observados em microscópio óptico, com aumento de 200x, utilizando-se 20 µL de sêmen disposto entre lâmina e lamínula pré-aquecidas a 37° C. Uma alíquota de 50 µL de sêmen foi diluída de 950 µL de formol-salina para determinação da concentração espermática em câmara de Neubauer e cálculo do número de doses.

Congelamento de sêmen

Após as avaliações imediatas, o sêmen foi diluído em meio à base de leite desnatado (Botu-Sêmen®) na proporção 1:2 (uma parte de sêmen para uma parte de diluente) e centrifugado a 600xg por 10 minutos.

Imediatamente após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e o pelete, rico em espermatozoides, ressuspenso com o diluente de congelamento do respectivo tratamento, numa concentração espermática de 200 milhões de espermatozoides por mL. As amostras foram envasadas em palhetas francesas de 0,5 mL, devidamente identificadas, e então, refrigeradas à 5° C por 60 minutos. Após este período, as palhetas foram alocadas em vapor de nitrogênio, a 6 cm do nível de nitrogênio líquido, por 15 minutos e posteriormente mergulhadas em botijão criogênico.

Avaliação seminal pós-descongelamento

As palhetas foram descongeladas a 46° C por 20 segundos e as amostras acondicionadas em microtubos em banho-maria a 37° C.

3.4.1. Morfologia espermática

Para a avaliação da morfologia espermática (sêmen fresco e sêmen congelado), foram adicionados em 1 mL de solução formol salina tamponada, 100 µL de sêmen ou quantidade suficiente para turvar a mesma. A análise foi realizada pelo método de preparação úmida, baseada na quantificação das patologias, segundo classificação de Blom (1973), preconizadas pelo CBRA (1998), em defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais. Foram contabilizadas 200 células em microscopia óptica em contraste de fase em aumento de 1.000x, utilizando óleo de imersão.

Teste de termo-resistência (TTR)

As amostras destinadas ao teste de termo-resistência permaneceram incubadas em banho-maria a 38° C, sendo que a motilidade e vigor espermáticos foram avaliados nos tempos 0, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos.

Avaliação da integridade de membrana plasmática por meio do teste supravital (SV)

A avaliação das células viáveis e não viáveis pelo teste supravital foi realizada utilizando solução de eosina (1%) e negrosina (5%), conforme descrito por Swanson e Bearden (1951). Uma amostra de 20 µL de sêmen foi homogeneizada com 20 µL do corante e um esfregaço foi confeccionado sobre a lâmina. Após aproximadamente 30 segundos (BARTH; OKO, 1989), a amostra foi analisada em microscopia óptica com aumento de 1.000x sob óleo de imersão e contabilizado o total de espermatozóides corados, dentro de um grupo de 100 células. As células viáveis permanecem sem se corar enquanto que as não viáveis se apresentam coradas em rosa-avermelhado.

Avaliação da funcionalidade da membrana plasmática por meio do teste hiposmótico (HOST)

Amostras de todas as partidas foram avaliadas quanto à integridade funcional da membrana espermática por meio do teste hiposmótico, seguindo metodologia descrita por Alves et al. (2005). Uma amostra de 100 µL de sêmen foi adicionada em 800 µL de água destilada pré-aquecida a 37° C, permanecerá incubada por 15 minutos, e foi então fixada com 0,5 mL de formol salina tamponada. As avaliações foram realizadas posteriormente por metodologia de preparação úmida, adicionando-se uma gota de 20 µL da amostra entre lâmina e lamínula. A contagem de 200 células foi feita em microscopia óptica com contraste de fase em óleo de imersão, sob aumento de 1.000 X. Na análise, todas as células espermáticas apresentando dobra ou enrolamento de cauda foram consideradas como reativas ao teste.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos testados e 5 repetições por tratamento. O meio diluidor utilizado para os diferentes tratamentos foi o Botu-Crio sem crioprotetor. A este meio foi acrescentado dimetilformamida (DMF) e glicerol (GLC), associados ou não.

- Tratamento 1: Botu-Crio sem crioprotetor + DMF (3%) + GLC (2%)
- Tratamento 2: Botu-Crio sem crioprotetor + DMF (5%)
- Tratamento 3: Botu-Crio sem crioprotetor + GLC (5%)

Análise estatística

Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas 9,1 (SAEG-UFV, 2007).

Para todas as características estudadas foram estimadas as médias, desvios-padrão, coeficiente de variação e distribuição de frequência.

Todos os dados quantitativos foram submetidos ao teste de normalidade dos dados e a homocidade das variâncias, posteriormente submetidas a ANOVA, e as médias comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro. Quando não atendidas as premissas da ANOVA, os dados foram avaliados por análise não paramétrica (teste de Kruskal Wallis ou Wilcoxon), também com 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os parâmetros seminais avaliados *in natura* de todos os garanhões utilizados no experimento encontram-se sumariados na tabela 1. Os parâmetros físicos dos ejaculados analisados foram contrastados entre os animais e não diferiram entre si ($P > 0,05$). Todos os garanhões apresentaram médias de morfologia, motilidade e vigor espermáticos acima do limiar mínimo exigido pelo CBRA (1998) (70% de motilidade espermática, 3 de vigor espermático e 30% de defeitos totais).

Tabela 1: Valores médios e desvio-padrão de volume seminal, concentração, motilidade e vigor espermáticos de quatro garanhões adultos da raça Mangalarga Marchador.

Animal	Volume (mL)	Concentração ($\times 10^6$ /mL)	Motilidade (%)	Vigor(0-5)	Morfologia espermática(Defeitos totais - %)
1	29,0 \pm 13,8	174,0 \pm 68,2	85,0 \pm 5,0	4,0 \pm 0,6	15,0 \pm 0,5
2	30,0 \pm 8,9	245,0 \pm 74,6	90,0 \pm 2,9	4,0 \pm 0,1	13,5 \pm 0,7
3	40,0 \pm 14,8	192,3 \pm 77,5	77,5 \pm 9,5	3,8 \pm 0,3	21,3 \pm 0,9
4	40,0 \pm 15,1	325,0 \pm 131,0	70,0 \pm 10	3,0 \pm 0,2	18,4 \pm 0,3

A qualidade espermática dos ejaculados avaliada nos testes complementares hiposmótico e supravital não variou entre os animais, sendo as médias encontradas: 73% e 84,6%, respectivamente.

Em relação aos tratamentos impostos para o congelamento de sêmen, observou-se diferença significativa entre as médias dos tratamentos (tabela 2), não sendo observadas diferenças entre os animais. O tratamento a base de glicerol revelou a menor motilidade espermática (32,5%) quando comparado aos meios contendo dimetilformamida, enquanto que os tratamentos dimetilformamida e glicerol associado à dimetilformamida não apresentaram diferenças entre si (55,8% x 59,6%). Em relação aos testes complementares e morfologia espermáticas não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

Tabela 2: Valores médios e desvio-padrão de motilidade e vigor espermáticos do sêmen congelado em meios contendo glicerol (5%), dimetilformamida (5%) e glicerol(2%) associado à dimetilformamida (3%).

Tratamento	Motilidade (%)	Vigor (0-5)
GLC	32,5 ± 17,1 ^b	3,0 ± 0,5
DMF	55,8 ± 18,1 ^a	3,0 ± 0,5
GLC+DMF	59,6 ± 18,3 ^a	3,0 ± 0,4

Os valores de motilidade espermática e vigor espermático, em função dos tempos no teste de termo-resistência, encontram-se sumariados na tabela 3. O tratamento à base de glicerol apresentou os piores resultados, caracterizando menor resistência ao teste quando comparado aos demais tratamentos.

Tabela 3: Valores médios e desvio-padrão da motilidade e vigor espermáticos do sêmen congelado e descongelado ao longo do tempo do teste de termo-resistência.

Tratamento	T0'		T30'		T60'		T90'	
	Mot	Vig	Mot	Vig	Mot	Vig	Mot	Vig
GLC	32,5 ± 17,1	3,0 ± 0,5	15,0 ± 8,9	2,3 ± 0,9	17,5 ± 17,7	2,0 ± 1,4	5,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0
DMF	55,8 ± 18,1	3,0 ± 0,5	40,0 ± 15,4	3,0 ± 0,4	20,0 ± 16,2	2,0 ± 1,2	20,0 ± 8,4	2,5 ± 0,5
GLC+DMF	59,6 ± 18,3	3,0 ± 0,4	40,0 ± 15,4	3,0 ± 0,5	20,0 ± 13,2	2,0 ± 1,2	10,0 ± 8,2	2,0 ± 1,3

Tais resultados podem estar relacionados ao efeito tóxico do glicerol, já relatado por muitos autores. Sua toxicidade parece causar desnaturação das proteínas, alteração nas interações de actina, além de ocasionar mudanças nos eventos citoplasmáticos devido ao aumento da viscosidade pelo glicerol intracelular, modificações na polimerização da tubulina, na associação de microtúbulos, atuação direta na membrana plasmática, alterações no glicocálix e nas proteínas da superfície celular (ALVARENGA et al., 2000).

A dimetilformamida é um crioprotetor que vem sendo utilizado com grande sucesso na congelação de sêmen eqüino. Seu uso para congelação de sêmen de garanhões com baixa resistência ao processo de criopreservação manifesta melhores resultados quando comparados com o glicerol, segundo GOMES et al. (2002).

O uso combinado de crioprotetores confere maior proteção em relação ao seu uso isolado (DALIMATA & GRAHAM, 1997). Assim sendo, a associação da dimetilformamida e do glicerol, conforme a composição do meio diluidor MP50, proporcionou uma melhor proteção da célula espermática durante a congelação, pois além da obtenção de excelentes resultados laboratoriais pós-descongelamento, manifestou índices de fertilidade superiores aos descritos na literatura. Este diluente combina os dois agentes citados, sendo também enriquecido com açúcares e substratos de cultivo celular como fontes de macromoléculas, além da presença de gema de ovo e leite desnatado, de modo que a associação destes componentes, da dimetilformamida e do glicerol é extremamente favorável à proteção do espermatozoide equino durante o processo de congelamento (PAPA *et al.*, 2002).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O glicerol utilizado a 5% no meio de congelamento de sêmen apresentou os piores resultados relacionados à resistência espermática *in vitro*, porém não apresentou diferenças quanto à integridade de membrana plasmática de espermatozoides equinos. O crioprotetor dimetilformamida apresentou-se como a melhor opção para o congelamento de sêmen e pode ser associado ao glicerol.

REFERÊNCIAS

ALVARENGA, M.A.; LANDIM-ALVARENGA, F.C.; MOREIRA, R.M.; CESARINO, M.M. Acrossomal ultrastructure of stallion spermatozoa cryopreserved with ethylene glycol using two packaging systems. **Equine Veterinary Journal**, v. 32(6), p.541-545, 2000.

ALVES, S. G. G. et al. Efeito da solução, da fixação em formol-salina e do tempo de incubação sobre os resultados do teste hiposmótico para sêmen eqüino congelado. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, p. 219-225. 2005.

AMANN, R.P.; PICKETT, B.W. Principles of cryopreservation and review of cryopreservation of stallion spermatozoa. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.7, p.145-173. 1987.

ASHWOOD-SMITH, M.J. Mechanisms of cryoprotectant action. **Symposia of the Society for experimental biology**, v.41, p.395-406. 1987.

BALL, B.A.; VO, A. Osmotic tolerance of equine spermatozoa and the effects of soluble cryoprotectants on equine sperm motility, viability and mitochondrial membrane potential. **Journal of Andrology**, v.22, p.1061-1069. 2001.

BARTH, Albert; OKO, Richard. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. 1st ed. Ames: Iowa State University Press, 1989.

BLOM, E. Pathological conditions in the genital organs and in semen as ground for rejection of breeding bulls for import or export to and from Denmark, **Nordisk Veterinaer Medicin**, v. 35, p. 105-130. 1973.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal**. 2^a ed. Belo Horizonte. 1998.

DALIMATA, A.M.; GRAHAM, J.K. Cryopreservation of rabbit spermatozoa using acetamide in combination with trehalose and methyl cellulose. **Theriogenology**, v.48, p.831-841, 1997.

GRAHAM, J.K. Cryopreservation of stallion spermatozoa. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 12, p. 131-147. 1996.

HAMMERSTEDT, R.H. et al. Cryopreservation of mammalian sperm: What we ask them to survive? **Journal of Andrology**, v.11, p.73-88. 1990.

HENRY, M. et al. Post-thaw spermatozoa plasma membrane integrity and motility of stallion semen frozen with different cryoprotectants. **Theriogenology**, v.58, p.245-248. 2002.

HOLT, W.V. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. **Theriogenology**, v.53, p.47-58, 2000.

LOVELOCK, J.E.; POLGE, C. The immobilization of spermatozoa by freezing and thawing and the protective action of glycerol. **Biochemic Journal**, v.58, p.618-622. 1954.

MOORE, L. H. A.; Tatcher, W. W.; Major advances associated with reproduction in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.89, p. 1254-1266, 2006.

NASH, T. Chemical constitution and physical properties of compounds able to protect living cells against damage due to freezing and thawing. In: MERUMAN, H.T. **Cryobiology**. New York: Academic Press, 1966. 179-220 p.

OLLIVIER M, GALL L.; The cell. In: Thibault C, Levasseur MC, Hunter RHF (Ed.). **Reproduction in mammals and man**. Paris: Elipses, p.179-196, 1993.

PARKS, J.E.; GRAHAM, J.K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. **Theriogenology**, v.38, p.209-22. 1992.

QUINN, P.J, CHOW, P.Y.W, WHITE, I.G.; Evidence that phospholipids protects ram spermatozoa from cold shock at a plasma membrane site. **J Reprod Fertil**, v.60, p.403-407, 1980.

ROWE, A.M. Biochemical aspects of cryoprotective agents in freezing and thawing. **Cryobiology**, v.3, p.12-18. 1966.

SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS – SAEG, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes, UFV – Viçosa, 2007.

SWANSON, E. W.; BEARDEN, H. J. An eosin-nigrosin stain for differentiating live and dead bovine spermatozoa. **Journal of Animal Science**, v. 10, p. 981-987. 1951.

WATSON, P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.60-61, p.481-92. 2000.

WATSON P.F. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. **Reprod Fertil Dev**, v.7, p.871-891, 1995.

WATSON P.F. The roles of lipid and protein in the protection of ram spermatozoa at 5°C by egg-yolk lipoprotein. **J Reprod Fertil**, v.62, p.483-492, 1981.

OLIVEIRA, G. C. et al. **Criopreservação do sêmen equino: uma revisão**. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.37, n.1, p.23-28, jan./mar. 2013.

EFEITO DA DILUIÇÃO DE SÊMEN DE GARANHÕES EM MEIO À BASE DE GEMA DE OVO PÓS-DESCONGELAMENTO

Acadêmicos: Joyce Fialho Lopes

Leandro Ferreira da Silva

Orientadora: Bruna Waddington de Freitas

RESUMO

Durante o procedimento de criopreservação de sêmen, os espermatozoides sofrem alguns danos que procedem na redução da fertilidade deste. O presente estudo objetivou avaliar os efeitos *in vitro* da diluição pós-descongelamento do sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador em meio à base de gema de ovo, em relação à viabilidade espermática, integridade e funcionalidade da membrana plasmática e morfologia espermática. Foram analisados 5 ejaculados de 2 garanhões da raça Mangalarga Marchador, quanto à motilidade, vigor e morfologia espermáticos. Os testes complementares aplicados foram coloração supravital, teste hiposmótico e teste de termo-resistência. Os dados encontrados indicaram que uma diluição com 50% de meio à base de gema de ovo após o descongelamento de sêmen de garanhões resultou na manutenção da viabilidade espermática, enquanto as diluições menos concentradas em gema de ovo foram prejudiciais quanto à motilidade espermática. Tais achados são sugestivos de novas pesquisas relacionadas a diferentes taxas de diluição do sêmen equino pós-descongelamento.

PALAVRAS CHAVE: congelamento, crioprotetor, diluição pós-descongelamento, equino, gema de ovo.

INTRODUÇÃO

Dentre as diferentes biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal, o congelamento de sêmen é consideravelmente importante por possibilitar o aproveitamento dos ejaculados de um mesmo reprodutor, facilitar a propagação de material genético entre regiões distantes, auxiliar na promoção do melhoramento genético da espécie (CARDOSO *et al.*, 2007) e minimizar perdas econômicas advindas da morte de reprodutores de alto valor comercial ou que participem de programas de revitalização de raças (WATSON, 2000).

Porém, a criopreservação do sêmen equino ainda não atingiu uma padronização de técnica que propicie resultados satisfatórios e repetitivos, como ocorre na espécie bovina. Os índices de fertilidade obtidos ainda são baixos, quando comparados aos resultados da utilização de sêmen fresco ou resfriado (WATSON, 2000; MORRIS, 1998), o que dificulta a utilização de amostras de sêmen congelado em ampla escala (ALVARENGA, 2002).

Diversas metodologias são descritas para o congelamento do sêmen e variam de acordo com a composição de diluentes e agentes crioprotetores empregados, preconizando o uso de diferentes curvas de refrigeração e congelamento. Em todas,

busca-se minimizar o dano causado ao espermatozoide pelo processamento, visando recuperar o máximo possível de espermatozoides viáveis (CARDOSO *et al.*, 2007).

O uso de agentes crioprotetores é indispensável na metodologia de congelamento de sêmen para conservação da viabilidade das células espermáticas, pois eles protegem tais células das lesões causadas pelo choque térmico, devido à formação de cristais de gelo, desidratação e posterior descongelamento (SNOECK, 2003). Apesar de fundamentais para a sobrevivência celular no processo de congelamento, alguns crioprotetores possuem efeitos tóxicos para o espermatozoide (BALL & VOSS, 2001), tornando essas substâncias empregadas na criopreservação de outros tipos celulares impróprias para a célula espermática (WATSON, 2000). Em função disso, a remoção do crioprotetor por diluição ou lavagem pós-descongelamento torna-se uma alternativa para obtenção de melhores índices de fertilidade, conforme demonstraram Vidament *et al.* (2009) e Trimeche *et al.* (1998) com sêmen asinino.

O objetivo a ser alcançado com o presente estudo foi avaliar *in vitro* o efeito da diluição pós-descongelamento do sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador em meio à base de gema de ovo, em relação à viabilidade espermática, integridade e funcionalidade da membrana plasmática e morfologia espermática.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

FISIOLOGIA REPRODUTIVA

A fisiologia reprodutiva do garanhão é complexa e compreende estruturas como o hipotálamo, hipófise, glândula pineal, o órgão vomeronasal e os testículos. O hipotálamo é responsável pela liberação pulsátil do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), que atua na hipófise anterior, regulando a produção e liberação dos hormônios gonadotróficos, o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH), que irão agir nas células testiculares atuando na espermatogênese e a esteroidogênese (BERTOL, 2009).

O FSH atua sobre as células de Sertoli e regula a produção de proteína ligadora de andrógenos, estrogênio, fatores de crescimento, inibina e ativina, todos componentes importantes para a produção de espermatozoides. A inibina e a ativina estão relacionadas ao processo de *feedback* do FSH (CANDEIAS, 2010).

Já o LH atua sobre as células de Leydig, promovendo o estímulo para a produção dos hormônios esteroides testosterona, diidrotestosterona e estrogênios, que regulam a espermatogênese, glândulas acessórias e a manutenção da libido. Especificamente a

testosterona e o estrogênio atuam sobre o hipotálamo e a adeno-hipófise por meio do mecanismo de *feedback* (BERTOL, 2009).

ESPERMATOGÊNESE

A espermatogênese refere-se a todo processo que envolve modificações das células do epitélio germinativo até a formação do espermatozoide. Mitoses e meioses acontecem progressivamente durante todo o processo, fazendo com que os espermatozoides apresentem um número haploide de cromossomos. Esse processo acontece nos túbulos seminíferos que compõem mais de 70% do parênquima testicular (BERTOL, 2009).

A espermiogênese é composta de várias mutações nucleares e modificações citoplasmáticas como a perda de sua grande parte, reorganização de organelas, formação do acrossomo e uma transformação de uma célula imóvel para uma célula potencialmente móvel, onde um flagelo é formado. As espermátides maduras produzidas durante a fase final da espermiogênese são liberadas no interior do lúmen dos túbulos seminíferos como espermatozoides (REECE, 1996).

O ESPERMATOZOIDE

As células espermáticas são altamente especializadas e constituídas por cabeça, peças intermediária, principal e terminal, que tem como único objetivo a fertilização do oócito (HAFEZ, 1995). O acrossoma é uma estrutura de dupla parede situada entre a membrana plasmática e a porção anterior do núcleo. O colo conecta a cabeça do espermatozoide com a cauda, a qual é subdividida em peça intermediária principal e terminal (GARNER & HAFEZ, 1995).

Após a ejaculação, os espermatozoides devem atingir o ampola da tuba uterina, onde ocorrerá fecundação. Após a fecundação, o DNA do espermatozoide se descondensa, o pró-núcleo masculino se forma e se liga ao pró núcleo feminino, dando origem ao genoma diploide do novo indivíduo. Portanto, para obtenção de sucesso na concepção, os espermatozoides devem possuir membrana e organelas íntegras funcionais e um genoma haplóide intacto (SNOECK *et al.*, 2007). Danos à membrana plasmática dos espermatozoides resultam em perdas irreversíveis da motilidade e/ou da capacidade de fecundação. Durante a ejaculação e no trato genital feminino, os espermatozoides são expostos a inúmeros fatores que podem causar danos à sua membrana plasmática ou induzir à morte celular, tais como variações no meio que os circunda como pH, temperatura e osmolaridade. Por esse motivo somente uma pequena

quantidade de células, de bilhões que foram ejaculadas, chegarão à tuba uterina (MORRIS *et al.*, 2003).

Para que se possam obter bons índices de concepção após a criopreservação, é necessário que se conheça a estrutura dos espermatozoides e os danos causados durante o seu processamento, a fim de se minimizar ou eliminar tais danos (SIEME; HARRISON; PETRUNKINA 2008).

MEMBRANA PLASMÁTICA

A membrana plasmática dos espermatozoides envolve toda a célula, mantendo todos os seus componentes intracelulares e organelas juntos e, através de suas características semipermeáveis, mantém um gradiente químico adequado de íons e outros componentes solúveis. A membrana plasmática consiste de cinco domínios específicos: acrossoma, segmento equatorial, segmento basal, região intermediária e cauda. Diferenças entre essas regiões estão relacionadas às suas diferentes funções fisiológicas (TOSHIMORI, 2011).

As membranas celulares são compostas de três classes de moléculas: lipídeos, proteínas e carboidratos. Os lipídeos são responsáveis pela integridade estrutural, as proteínas são as principais responsáveis pela ocorrência da maioria dos processos dinâmicos e os carboidratos desempenham importante papel nas interações entre as células (GADELLA, 2001).

Quanto ao comportamento das membranas frente à congelação, aquelas em que predominam lipídios de cadeia curta e com maior número de instaurações, são menos resistentes, em razão da menor tendência das caudas hidrocarbonadas interagirem e as duplas ligações dificultarem o seu agrupamento (CHAKRABARTY, *et al.*, 2007).

Segundo FLESCH & GADELLA (2000) a membrana plasmática é constituída por aproximadamente 70% de fosfolipídios, 25% de lipídeos neutros (colesterol, desmosterol, sulfato de colesterol e ésteres de colesterol) e 5% de glicolipídeos. As diferenças na quantidade de colesterol na membrana plasmática podem estar relacionadas com diferentes índices de capacitação, podendo também afetar a fertilidade e a capacidade do ejaculado em suportar o resfriamento e congelamento (YANAGUIMACHI *et al.*, 1994).

Quando comparado a outras espécies, a membrana plasmática dos espermatozoides dos equinos possui um conteúdo de colesterol estimado em 37%. No entanto esse conteúdo não se difere somente entre as espécies, mas também entre os

indivíduos de uma mesma espécie e mesmo entre os ejaculados de um mesmo indivíduo (GADELLA *et al.*, 2001)

Os espermatozoides do ganhão possuem um teor de 50% de proteínas que são classificadas como integrantes ou periféricas. As integrantes interagem amplamente com cadeias hidrocarbonadas de lipídios, mantendo as mesmas ancoradas e, portanto, só podem ser liberadas por agentes que competem essas interações não polares. Já as periféricas, em sua grande maioria estão ligadas à superfície das proteínas integrantes no lado citosólico ou no extracelular. Podem também se ligar por interação direta com as cabeças polares dos lipídios, mas não interagem com a porção hidrofóbica da bicamada de fosfolipídios (CHAKRABARTY, *et al.*, 2007).

Os carboidratos estão presentes em torno de 2 a 10% do peso total da membrana. Essas moléculas estão ligadas às proteínas dando origem às glicoproteínas ou aos lipídios, constituindo os glicolipídios, e dessa forma aumentam o caráter hidrofílico e a estabilização da estrutura da membrana (VALLE & FILHO, 2001).

CAPACITAÇÃO ESPERMÁTICA E REAÇÃO ACROSSOMAL

Os espermatozoides ejaculados dos mamíferos são impossibilitados de fecundar oócitos, sem que antes sofram algumas modificações no trato reprodutivo feminino. Esse processo resulta na capacitação espermática (AMANN e GRAHAM, 1992).

A capacitação espermática representa uma série de alterações que irão preparar o espermatozoide para a reação acrossomal (AMANN e GRAHAM, 1993). Uma dessas modificações é a alteração do padrão de motilidade espermática, que é chamada de hiperativação ou hipermotilidade. Durante a passagem pelo epidídimo, o espermatozoide adquire uma cobertura glicoprotéica que é acrescida de outras proteínas do plasma seminal, que são liberadas na ejaculação. O papel dessas proteínas é sustentar a integridade da membrana espermática durante sua passagem pelo trato reprodutivo feminino (TÖPFER-PETERSEN *et al.*, 2005). A capacitação espermática é o processo pelo qual essas proteínas são removidas ou modificadas para alterar o fluxo iônico através das membranas, expor sítios de receptores da membrana espermática e retirar componentes que estejam cobrindo a cauda, que podem alterar a motilidade hiperativa flagelar. Mutações similares ocorrem nas porções caudal e rostral da cabeça do espermatozoide, antecedendo a reação acrossomal e na peça intermediária (AMANN e GRAHAM, 1992). A desestabilização da membrana plasmática do espermatozoide é também necessária para sua capacidade fertilizante e esse processo ocorre através da

ligação do colesterol da membrana com proteínas da tuba uterina e de origem folicular (VALLE & FILHO, 2001).

A reação acrossomal é um processo que abrange a síntese e a formação de uma vesícula da membrana do acrossoma com a membrana plasmática da célula espermática, permitindo a liberação de suas enzimas hidrolíticas contidas naquele compartimento. A reação, no entanto, só acontecerá após a ligação do espermatozoide com a zona pelúcida, sendo parcialmente induzida por um componente glicoprotéico da zona pelúcida (YANAGUIMACHI, 1994).

CRIOPRESERVAÇÃO DE SEMEN

A criopreservação do sêmen equino se trata de um importante instrumento no melhoramento genético da espécie, pela maximização do uso de bons reprodutores. (FÜRST *et al.*, 2005).

O desenvolvimento desta técnica de preservação de gametas por longos períodos iniciou-se ainda no século XVIII com o padre italiano Spallanzani (1729-1799), avançou com a formulação das primeiras teorias de criopreservação por outro padre, B.J. Luyet, e tornou-se possível após a descoberta da capacidade crioprotetora do glicerol por Polge *et al.* (1949).

Porém, os índices de fertilidade obtidos com equinos ainda são muito baixos quando comparado com os obtidos com sêmen congelado de bovinos (FÜRST *et al.*, 2005). Os resultados insatisfatórios do sêmen criopreservado são associados principalmente a lesões celulares ocorridas devido a uma intensa pressão osmótica e formação de cristais de gelo intracelulares. Durante a congelação, a formação de cristais de gelo no meio extracelular eleva a osmolaridade do meio, promovendo a saída de água da célula, sendo que o mesmo ocorre de forma inversa durante o descongelamento. A entrada e a saída de água da célula devem ocorrer de forma limitada, evitando-se que as alterações do volume celular consequentes deste processo não causem perda da integridade da membrana plasmática e função celular (SIEME; HARRISON; PETRUNKINA 2008).

Na tentativa de evitar ou reduzir a ocorrência destas lesões, chamadas de crioinjúrias, novos protocolos de congelamento são desenvolvidos constantemente, principalmente quanto à utilização de diferentes substâncias crioprotetoras (PAPA *et al.*, 2011; PILLET *et al.*, 2012), redução ou eliminação dos efeitos deletérios da centrifugação (ALVARENGA *et al.*, 2012) e taxa de refrigeração (SALAZAR *et al.*, 2011).

DILUENTES E CRIOPROTETORES

Como forma de aperfeiçoar a qualidade do sêmen e protegê-lo, são acrescentados meios extensores ou diluidores ao sêmen após a sua coleta. Estes são pré-aquecidos e homogeneizados, em sua maioria, junto ao sêmen na proporção de 1:1 (BLANCHARD *et al.*, 2003).

Nos equinos comumente utilizam-se os diluentes a base de leite ou gema de ovo. A maioria contém fonte de lipoproteínas, sendo que as proteínas do leite são capazes de estabilizar elementos proteicos da membrana do espermatozoide (WATSON, 1981).

Os crioprotetores são adicionados ao meio para proteger o espermatozoide durante a criopreservação e descongelamento (GRAHAM, 1996). São importantes para evitar a formação de gelo intracelular. Entretanto altas concentrações de crioprotetores são deletérias aos espermatozoides devido a sua toxicidade e podem resultar na redução da fertilidade após a inseminação artificial (MEDEIROS, 2002).

A estrutura molecular é um parâmetro importante para determinar a eficiência dos crioprotetores, por possuírem afinidade pela água, devido a presença de grupamentos de amina e hidroxila em sua composição. Esses agrupamentos favorecem a formação de pontes de hidrogênio com as moléculas de água, criando um ambiente menos prejudicial às células (BAUDOT *et al.*, 2002)

Os crioprotetores mais comumente utilizados são o glicerol, o etilenoglicol, o DMSO e as amidas (KEITH, 1998). Segundo Watson (1979) estas substâncias atuam através de propriedade coligativa com a água, ou seja, reduzindo seu ponto de congelamento.

O glicerol penetra na membrana celular através da difusão passiva, permanecendo na membrana e no citoplasma, reduzindo o estresse osmótico através da reposição de água necessária para manutenção do volume celular, das interações com íons e macromoléculas, assim como pela redução do ponto de congelamento da água (MEDEIROS *et al.*, 2002). Porém, o seu uso pode estar relacionado à baixa motilidade pós-descongelamento e redução da fertilidade (MEDEIROS *et al.*, 2002). Em equinos, existem grandes variações nas concentrações de glicerol utilizadas, mas se considera necessário o uso de um percentual inferior ao utilizado para bovinos (KEITH, 1998).

O dimetilsufóxido é muito utilizado como crioprotetor, uma vez que penetra rapidamente na membrana plasmática. Para que um soluto atue dessa maneira, é necessário que seja solúvel à membrana, assim como em água. Este crioprotetor tem como inconveniente a capacidade de causar alterações na membrana, as quais danificam

e inviabilizam as células. Porém não apresentam os efeitos tóxicos do glicerol (BLANCO  *et al.*, 2000).

As amidas demonstram eficiência de congelação em diversas espécies animais e também na equina. As amidas apresentam resultados bastante favoráveis nos diversos parâmetros espermáticos observados, em especial para garanhões que apresentam resultados desfavoráveis com o uso do glicerol. De um modo geral, as amidas apresentam uma menor toxicidade ao espermatozoide quando comparadas ao glicerol (ALVARENGA *et al.*, 2000). A sua eficiência também pode estar relacionada ao seu menor peso molecular em relação ao glicerol, o qual confere uma maior permeabilidade na membrana plasmática e acrossomal, conseqüentemente causa menor dano aos espermatozoides (MEDEIROS *et al.*, 2003)

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO SÊMEN CRIOPRESERVADO

Após os procedimentos de refrigeração e congelamento, o sêmen congelado deve ser analisado laboratorialmente com o objetivo de averiguar a intensidade dos danos causados à célula espermática (KATILA, 2002).

A motilidade e vigor espermáticos são características importantes porque refletem diversos aspectos do metabolismo espermático. No entanto para estimar o potencial fertilizante do sêmen, a motilidade e o vigor espermáticos devem ser avaliados em conjunto com outros parâmetros seminais (KATILA, 2002). Uma baixa motilidade espermática pode sugerir a não utilização de uma amostra seminal, porém uma boa motilidade não indica necessariamente que a capacidade fertilizante dos espermatozoides será mantida (BLACH *et al.*, 1989).

A avaliação dessas características espermáticas por microscopia de luz envolve estimativas subjetivas da viabilidade dos espermatozoides e da qualidade e intensidade da motilidade. Portanto, para estimativa deste parâmetro, é necessário um técnico com muita prática e um microscópio adequadamente equipado. O movimento espermático é extremamente susceptível às condições ambientais, de modo que é necessário proteger o sêmen de condições ou agentes prejudiciais antes da análise (AX *et al.*, 2004).

A avaliação computadorizada do sêmen permite avaliar a motilidade seminal de forma objetiva, ou seja, sem a possibilidade de erros humanos e influências “tendenciosas” por parte do examinador. Este sistema permite ainda que as velocidades dos espermatozoides sejam determinadas e alguns sistemas podem ser equipados com a capacidade de avaliar também a morfologia das células espermáticas (GRAHAM &

MOCÉ, 2005). O sistema de avaliação de morfologia automática foi validado para o sêmen humano, mas não para o sêmen equino (KATILA, 2002).

No que se refere à avaliação da morfologia, as causas de defeitos espermáticos podem ser de origem ambiental, genética ou a combinação de ambas (CHENOWETH, 2005). As anormalidades morfológicas, inicialmente, foram classificadas por Blom (1950), citado por Barth e Oko (1989), em primárias, as que têm origem nos testículos durante a espermatogênese, e secundárias, aquelas que se originam após a formação nos testículos. Esse sistema de classificação foi revisto por Blom (1973), citado por Barth e Oko (1989), e passou a ser dividido em defeitos maiores e menores, de acordo com o prejuízo causado à fertilidade.

Parâmetros seminais clássicos, como o número total de espermatozoides no ejaculado, a motilidade progressiva e a morfologia espermática, têm uma capacidade limitada para prever o potencial fecundante dos gametas (AMANN, 1989). Por serem de crucial importância para a função celular e durante o processo de fecundação, que envolve capacitação espermática, reação acrossomal, ligação à zona pelúcida e fusão dos gametas, a avaliação das membranas espermáticas tem um papel relevante. Na análise da estrutura das membranas espermáticas, são comumente utilizadas sondas fluorescentes (HARRISON e VICKERS, 1990), dupla coloração com eosina/nigrosina (BARTH e OKO, 1989) e teste hiposmótico que fora originalmente desenvolvido para verificar a funcionalidade da membrana plasmática de espermatozoides humanos (JEYENDRAN *et al.*, 1984).

Todos esses testes laboratoriais de análise de sêmen buscam otimizar a predição da capacidade fertilizante do sêmen. Dentre estes exames a técnica mais refinada consiste na utilização de sondas fluorescentes, e vem ganhando importância por sua característica de marcar estruturas específicas das células e de detectar integridade estrutural ou funcionalidade de forma clara (CELEGHINI, 2005). Isoladas ou em combinação, as sondas podem ser visualizadas simultânea ou separadamente, usando diferentes filtros (RODRIGUEZ-MARTINEZ, 2000; GILLAN *et al.*, 2005), em microscópio de fluorescência.

Um teste facilmente aplicável em qualquer laboratório de andrologia é o supravital ou dupla coloração com eosina/nigrosina. A eosina é um corante que não penetra em células com membrana plasmática intacta, mas, quando lesadas, estas são coradas em rosa. A nigrosina é responsável pelo contraste mais escuro de fundo da lâmina, o qual permite a visualização dos espermatozoides não corados. Portanto, este teste tem sido recomendado como uma avaliação adicional àquelas de rotina (BRITO, 2007). Essa

coloração foi descrita pela primeira vez em 1951 por Swanson e Bearden e desde então, vem sendo amplamente utilizada.

Outro teste pouco laborioso é o teste hiposmótico, que avalia a integridade funcional da membrana plasmática. Esta, uma vez intacta, quando o espermatozoide é incubado em solução hiposmótica, ocorre o influxo de água até que seja atingido o equilíbrio osmótico. Como consequência desse processo, a membrana se expande, causando o enrolamento da cauda, mas, se a membrana estiver danificada, essa reação não ocorrerá (JEYENDRAN *et al.*, 1984).

A associação do corante supravital ao teste hiposmótico auxilia na avaliação do sêmen congelado. A eosina/nigrosina detecta a integridade física da membrana plasmática, enquanto o teste hiposmótico avalia se ela está bioquimicamente ativa, uma vez que a capacitação espermática, a reação do acrossomo e a fusão do espermatozoide ao oócito requerem a membrana estruturalmente intacta e bioquimicamente ativa. O teste hiposmótico fornece informações sobre a integridade da membrana plasmática na cauda, e a associação com a eosina permite avaliar também a região da cabeça (ARRUDA *et al.*, 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS

Foram utilizados 5 ejaculados de 2 garanhões da raça Mangalarga Marchador, considerados hígidos, aprovados no exame andrológico e com características seminais adequadas ao processo de congelamento, segundo pré-requisitos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (1998).

Sendo que na espécie equina, o total de defeitos não deve ultrapassar 30%, o vigor espermático deve ser igual ou superior a 3 e a motilidade acima de 70% para que o sêmen seja considerado adequado ao processo de congelamento (COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998).

COLETA E AVALIAÇÃO IMEDIATA DE SÊMEN

Os garanhões foram submetidos coletas de sêmen, utilizando vagina artificial (modelo Botucatu). Antes do início do experimento, cada reprodutor teve sua reserva espermática extra-gonádica esgotada por meio de coletas diárias, por cinco dias consecutivos, seguido por um intervalo de dois dias de repouso sexual.

Após a coleta, foi retirada por filtração a fração gel do ejaculado e a avaliação imediata foi realizada. A motilidade (%) e o vigor (0 - 5) espermáticos foram observados em microscópio óptico, com aumento de 200x, utilizando-se 20 µL de sêmen disposto entre lâmina e lamínula pré-aquecidas a 37° C. Uma alíquota de 50 µL de sêmen foi diluída de 950 µL de formol-salina para determinação da concentração espermática em câmara de Neubauer.

CONGELAMENTO DE SÊMEN

O sêmen foi diluído em meio à base de leite desnatado (Botu-Sêmen®, Botupharma, Botucatu, SP, Brasil) na proporção 1:1 e centrifugado a 600xg por 10 minutos. Imediatamente após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e o pélete, rico em espermatozoides, ressuspenso com o diluente comercial Botu-Crio® (Botupharma, Botucatu, SP, Brasil) numa concentração espermática de 100 milhões de espermatozoides por mL. As amostras foram envasadas em palhetas francesas de 0,5 mL, e então, refrigeradas à 5° C por 20 minutos. Após este período, as palhetas foram alocadas em vapor de nitrogênio líquido, a 6 cm da lâmina de nitrogênio, por 15 minutos e posteriormente mergulhadas em botijão criogênico.

AVALIAÇÃO SEMINAL PÓS-DESCONGELAMENTO

MORFOLOGIA ESPERMÁTICA

Para a avaliação da morfologia espermática, foram adicionados em 1 mL de solução formol salina tamponada, 100 µL de sêmen ou quantidade suficiente para turvar a mesma. A análise foi realizada pelo método de preparação úmida, baseada na quantificação das patologias, segundo classificação de Blom (1973), preconizadas pelo CBRA (1998), em defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais. Foram contabilizadas 200 células em microscopia óptica em contraste de fase em aumento de 1.000x, utilizando óleo de imersão.

TESTE DE TERMO-RESISTÊNCIA (TTR)

As amostras foram descongeladas em banho maria a 37° C por 30 segundos e mantidas incubadas até que a motilidade atingisse um valor de 30%. Os parâmetros motilidade e vigor espermáticos foram avaliados nos tempos 0, 30, 60 e 90 minutos.

AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE DE MEMBRANA PLASMÁTICA POR MEIO DO TESTE SUPRAVITAL (SV)



A avaliação das células viáveis e não viáveis pelo teste supravital foi realizada utilizando solução de eosina (1%) e negrosina (5%), conforme descrito por Swanson e Bearden (1951). Uma amostra de 20 μL de sêmen foi homogeneizada com 20 μL do corante e um esfregaço foi confeccionado sobre a lâmina. Após aproximadamente 30 segundos (BARTH & OKO, 1989), a amostra foi analisada em microscopia óptica com aumento de 1.000x sob óleo de imersão e contabilizado o total de espermatozoides corados, dentro de um grupo de 100 células. As células não coradas foram consideradas viáveis.

AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE DA MEMBRANA PLASMÁTICA POR MEIO DO TESTE HIPOSMÓTICO (HOST)

Amostras de todas as partidas foram avaliadas quanto à integridade funcional da membrana espermática por meio do teste hiposmótico, seguindo metodologia descrita por Alves *et al.* (2005). Uma amostra de 100 μL de sêmen foi adicionada em 800 μL de água destilada pré-aquecida a 37° C, permanecendo incubada por 15 minutos, e então fixada com 0,5 mL de formol salina tamponada. As avaliações foram realizadas posteriormente por metodologia de preparação úmida, adicionando-se uma gota de 20 μL da amostra entre lâmina e lamínula. A contagem de 100 células foi feita em microscopia óptica com contraste de fase em óleo de imersão, sob aumento de 1.000 X. Na análise, todas as células espermáticas apresentando dobramento ou enrolamento de cauda foram consideradas como reativas ao teste.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As amostras foram descongeladas em *pool* de 8 palhetas, a 37° C por 30 segundos em banho-maria e aliquotadas em microtubos plásticos, conforme os tratamentos:

- C (controle): 500 μL de sêmen descongelado
- G10: 450 μL de sêmen descongelado adicionado de 50 μL de Botu-Crio® sem crioprotetor
- G20: 400 μL de sêmen descongelado adicionado de 100 μL de Botu-Crio® sem crioprotetor
- G30: 350 μL de sêmen descongelado adicionado de 150 μL de Botu-Crio® sem crioprotetor

- G40: 300 µL de sêmen descongelado adicionado de 200 µL de Botu-Crio® ^{sem} crioprotetor

- G50: 250 µL de sêmen descongelado adicionado de 250 µL de Botu-Crio® ^{sem} crioprotetor

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas 9,1 (SAEG-UFV, 2007).

Para todas as características estudadas foram estimadas as médias, desvios-padrão, coeficiente de variação e distribuição de frequência.

Todos os dados quantitativos foram submetidos ao teste de normalidade dos dados e a homocidadade das variâncias, posteriormente submetidas à ANOVA, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ou Duncan, com 5% de probabilidade de erro. Todos os dados atenderam às premissas da ANOVA.

RESULTADOS

As médias encontradas para os parâmetros espermáticos avaliados *in vitro* encontram-se sumariadas na Tabela 1. O grupo controle apresentou maior viabilidade espermática (motilidade 38%; vigor 3,5%) quando comparado com os demais tratamentos, porém os testes de integridade de membrana supravital e hiposmótico não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

Tabela 1: Aspectos espermáticos obtidos pós-descongelamento de sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador e submetidos a diferentes diluições em meio à base de gema de ovo.

Tratamento	Motilidade (%)	Vigor (1-5)	Supravital (%)	Host (%)
G10	26 ± 8,94 ^D	3 ± 0,2 ^B	19,8 ± 10,3	15,3 ± 7,6
G20	24 ± 16,36 ^D	3 ± 0,2 ^B	19,2 ± 5,7	16,2 ± 10,4
G30	25 ± 17,32 ^D	3 ± 0,2 ^B	17,6 ± 8,3	17,5 ± 5,5
G40	17 ± 9,75 ^D	3 ± 0,5 ^B	18,2 ± 6,5	15,9 ± 7,9
G50	30 ± 21,51 ^{ab}	3 ± 0,5 ^B	23,8 ± 10,4	21,2 ± 8,7
C	38 ± 12,55 ^a	3,5 ± 0,3 ^A	21,6 ± 14,1	18,4 ± 5,1

^{a...b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Duncan.

^{A...B} Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Em relação à morfologia espermática, não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito de diferentes concentrações de diluição em meio à base de gema de ovo pós-descongelamento de sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador.

Tratamento	Defeitos Maiores (%)	Defeitos Menores (%)	Defeitos Totais (%)
G10	19 ± 5,3	13 ± 4,8	32 ± 11,4
G20	18 ± 2,4	11 ± 5,9	29 ± 10,6
G30	15 ± 7,7	17 ± 8,1	32 ± 17,3
G40	17 ± 4,9	9 ± 5,0	26 ± 12,7
G50	16 ± 6,7	14 ± 4,2	30 ± 12,1
C	15 ± 5,2	10 ± 3,8	25 ± 9,5

Nenhuma das amostras foi aprovada no teste de termo-resistência, pois todas atingiram valores inferiores a 30% de motilidade após 30 minutos de incubação em banho maria à 37° C.

DISCUSSÕES

Alguns pesquisadores relatam os benefícios teóricos de uma diluição seriada para remoção dos crioprotetores de sêmen congelado em humanos. Entretanto, há poucos resultados experimentais acerca dos efeitos nas células espermáticas, tornando os dados ainda pouco consistentes (GAO et al., 1995; GILMORE *et al.*, 1997).

No presente estudo, os valores médios de motilidade para o sêmen descongelado situaram-se dentro dos padrões referidos pela literatura, pois os dados citados em registros científicos variam entre 15 e 75% (McKINNON & VOSS, 1993). Estes dados se referem a diferentes raças, diluentes, protocolos de refrigeração e congelamento (HEITLAND, 1996; BLANES, 2005). Porém, somente as amostras referentes ao tratamento com 50% de gema de ovo e grupo controle apresentaram motilidade compatível com o preconizado pelo CBRA (1998), em que uma partida de sêmen só deve ser liberada para comercialização se a mesma apresentar uma motilidade mínima de 30% e vigor acima de 3.

Em relação à motilidade foram observadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. Porém, a adição do diluente à base de gema de ovo não proporcionou incremento sobre a motilidade em relação ao grupo controle. Os dados nas diluições de 10 a 40% testadas foram inferiores aos resultados obtidos por Papa *et al.*, (2011) que, em um experimento com o referido diluente, observaram 28.8% de motilidade. Entretanto, o grupo G50 manteve a motilidade espermática, o que corrobora com Papa *et al.*, (2011) que afirmam que amostras descongeladas diluídas em gema de ovo mantiveram a motilidade.

Segundo Jiménes *et al.*, (2004), a diminuição nos parâmetros de motilidade pode ocorrer devido a aumento da viscosidade do meio em que estão contidos os espermatozoides. De acordo com estudos de Payawal *et al.*, (1946), as altas temperaturas atingidas durante o processo de pasteurização da gema de ovo pode levar a desnaturação das proteínas levando o meio a ter uma maior consistência após a reconstituição. Essa condição pode também estar relacionada à queda do vigor espermático nas amostras dos grupos tratados em relação ao grupo controle. Estes resultados estão de acordo com os achados de Pugliesi (2009) que, avaliando o sêmen equino resfriado com diluentes à base de leite desnatado ou de gema ovo encontrou queda quanto ao vigor espermático após tratamento com diluente à base de gema de ovo.

Embora tenha sido evidenciada a queda na viabilidade espermática após a diluição pós-descongelamento, não houveram alterações significativas quanto à morfologia espermática e integridades estrutural e funcional da membrana plasmática, evidenciado pelos testes supravital e hiposmótico, respectivamente. Sendo assim, pode se dizer que a diluição pós descongelamento em meio à base de gema de ovo manteve uma boa viabilidade da membrana plasmática e que os testes complementares aplicados foram eficientes em demonstrar esta característica. Segundo Graham (1996), a gema de ovo possui fosfolipídeos que se fundem com a membrana dos espermatozoides e assim diminuem a sua temperatura de transição de fases durante o descongelamento. A fosfatatidilserina presente na gema é o fosfolipídeo mais efetivo em proteger a membrana espermática do choque térmico.

Nenhuma das amostras foram aprovadas no teste de termo-resistência, segundo os pré-requisitos estabelecidos. Porém, trata-se de uma condição esperada, uma vez que os ganhões utilizados no presente estudo não podem ser considerados “bom-congeladores” de sêmen, por apresentarem motilidade espermática abaixo de 40% ao descongelamento, segundo classificação proposta por Tischner (1979).

CONCLUSÃO

A diluição pós-descongelamento em meio à base de gema de ovo não incrementou nenhum dos parâmetros avaliados no presente estudo. Porém, a diluição de 50% manteve a viabilidade espermática, o que sugere que novos estudos devam ser conduzidos em relação a maiores taxas de diluição do sêmen equino pós-descongelamento.

REFERÊNCIAS



- ALVARENGA, M. A.; *et al.* Alternative cryoprotectors for freezing stallion spermatozoa. **14th int cong. Anim. Reprod.** 2:157, 2000.
- ALVARENGA. M.A.; LEÃO, K.M.; PAPA, F.O. Improvement of stallion semen post-thaw motility with the utilization of dimethyl-formamide as cryoprotector. **Theriogenology**, v.57, n.1, p.459, 2002.
- ALVARENGA, M. A.; *et al.* A new method for concentrating equine sperm. **Animal Reproduction Science**, v.32, p.424-429, 2012.
- ALVES, S. G. G.; *et al.* Efeito da solução, da fixação em formol-salina e do tempo de incubação sobre os resultados do teste hiposmótico para sêmen equino congelado. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, p. 219-225. 2005.
- AMANN, R.P. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? **J Androl**, v.10, p.89-98, 1989.
- AMANN, R. P.; GRAHAM, J. K. Spermatozoal function. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L.: **Equine Reproduction**, Filadelfia: Lea & Febiger, p. 715-745. 1992.
- AMANN R. P, GRAHAM J. K. Spermatozoal function. In: Mc Kinnon AO, Voss JL (Ed.). **Equine reproduction**. Pennsylvania: Lea & Febiger, cap.80, p.715-745, 1993.
- ARRUDA, R.L.; *et al.* Técnicas para avaliação laboratorial da integridade estrutural e funcional do sêmen congelado de touros. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.34, n.3, p.168-184. 2010.
- AX, R.L.; *et al.* Avaliação do Sêmen. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. Manole, p. 369 – 379. 2004.
- BALL, B. A.; VOSS, A. Osmotic tolerance of equine spermatozoa and the effects of soluble cryoprotectants on equine sperm motility, viability and mitochondrial membrane potential. **Journal of Andrology**, n. 22, p. 1061-1069, 2001.
- BARTH, A.D., OKO R.J. Preparation of semen for morphological evaluation. In: Abnormal morphology of bovine spermatozoa. **Ames, IA: Iowa State University Press**, p.285. 1989.
- BARTH, A.D; OKO, R.J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. 1st ed. Ames: Iowa State University Press, 1989.
- BAUDOT, A.; *et al.* Thermal study of simple aminoalcohol solution. **Criobiology**, v.44, p.150-160, 2002
- BERTOL, M. A. F. Alguns Aspectos Fundamentais Sobre O Exame Andrológico Em Equinos. Trabalho apresentado para conclusão de curso de medicina veterinária da Universidade Federal do Paraná. 2009.

BLACH, E.L.; *et al.* Changes in quality of stallion spermatozoa during cryopreservation : membrane integrity and motion characteristics of the plasma..**Theriogenology** v. 31, p. 283-298.1989.

BLANCHARD, C. M.; *et al.* Is the theory of planned behavior a useful framework for understanding exercise adherence during phase II cardiac rehabilitation? **Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation**, v.23, p.29-39. 2003.

BLANCO, J.S.; *et al.* Species variation in osmotic cryoprotectant and cooling rate tolerance in poultry, eagle, and peregrine falcon spermatozoa. **Biology of Reproduction**, v.63, p.1167-1171, 2000

BLANES, M.S.; *et al.* Influencia do numero de espermatozoides e tempo de estabilização no congelamento de sêmen equino utilizando-se diluente Botu-Crio. **Acta Scientiae Veterinae**, v.3, p.303, 2005

BLOM, E. The ultrastructure of some characteristics sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. **Nord Veterinaarmed**, v.25, p.383-391, 1973.(a).

BLOM, E. Pathological conditions in the genital organs and in semen as ground for rejection of breeding bulls for import or export to and from Denmark, **Nordisk Veterinaer Medicin**, v. 35, p. 105-130. 1973. (b)

BRITO, L.F.C. Evaluation of stallion sperm morphology. **Clin Techn Equine Pract**, v.6, p.249-264, 2007.

CANDEIAS, M.L. **Avaliação de diferentes protocolos de criopreservação de sêmen de ganhoes da raça Manga Larga Marchador**. Dissertação (mestrado em clinica e reprodução animal)- Universidade Federal Fluminense, 2010.

CARDOSO, R.C.S.; *et al* .Evaluation of fertilizing potential of frozen-thawed dog spermatozoa diluted in ACP-106 using an in vitro sperm-oocyte interaction assay. **Reprod. Dom. Anim.** v.42, p.11–16, 2007.

CELEGHINI E.C.C. **Efeitos da criopreservação do sêmen bovino sobre as membranas plasmáticas, acrossomal e mitocondrial e estrutura da cromatina dos espermatozóides utilizando sondas fluorescentes**. 186f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2005.

CHAKRABARTY, J.; *et al.* Changing specific lipid components of the sperm cell membrane during cryopreservation **Cryobiology**, v.54, n.1, p.27-35, 2007.

CHENOWETH, P.J. Genetic sperm defects. **Theriogenology**, v.64, p.457-468, 2005.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL – CBRA. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal**. 2ª ed. Belo Horizonte. 1998.

FLESCHE, F.M.; GADELLA, B.M. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the processo f fertilization. **Biochem. Biophys. Acta** v.1469, p.197-235, 2000

FÜRST, R.; *et al.* Efeito do resfriamento do sêmen equino sobre sua congelabilidade. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v57, n.5, p. 599-607, 2005.



GADELLA, B.M.; *et al.* Capacitation and the acrosome reaction in equine sperm. **Animal reproduction science**, v.68 p.249-265. 2001.

GAO, D.Y. *et al.* Prevention of osmotic injury to human spermatozoa during addition and removal of glycerol. **Human Reproduction**, n.10, p.1109-1122, 1995

GARNER, D.L.; HAFEZ, E.S.E. **Espermatozoides e plasma seminal**. In: HAFEZ, E.S.E. (Ed). *Reprodução animal* 6° ed. São Paulo: editor Manole Ltda, p. 175-190. 1995.

GILLAN, L., EVANS, G., MAXWELL, W.M.C. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. **Theriogenology**, v. 63, p. 445-457, 2005.

GILMORE, J.A. *et al.* Determination of optimal cryoprotectants and procedures for their addition and removal from human spermatozoa. **Human Reproduction**, n. 12, p. 112-118. 1997.

GRAHAM, J.K.; MOCÉ, E. Fertility evaluation of frozen/thawed semen. **Theriogenology** v.64, p. 492-502, 2005.

GRAHAM, j.k. Cryopreservation of stallion spermatozoa. **Reproduction and Technology**, v.12, n.1, p.131-145, 1996.

HAFEZ, E.S.E. (Ed). **Reprodução animal** 6° ed. São Paulo: editor Manole Ltda. 1995.

HARRISON, R.A.P., VICKERS, S.E. Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa. **J Reprod Fertil**, v.88, p.343-352, 1990.

HEITLAND, A.V.; JASKO, D.J.; SQUIRES, E.L. Factors affecting motion characteristic of frozen-thawed stallion spermatozoa. **Equine Veterinary Journal**, v.28, p.47-53, 1996.

JEYENDRAN, R.S., *et al.* Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. **J Reprod Fertil**, v.70, p.219-228, 1984.

JIMÉNEZ, F.M.; *et al.* M Use of powdered egg yolk vs fresh egg yolk for the cryopreservation of ovine semen. **Reproduction Domestic Animals**, v.39, n.6, p.438-441, 2004..

KATILA, T.; Post-thaw motility and viability of fractionated and frozen stallion ejaculates..**Theriogenology** v.58, p.241-244, 2002.

KEITH, S.L. **Evaluation of new cryoprotectants for the preservation of equine spermatozoa**. Colorado, EUA: Thesis (Master of Science) - Colorado State University, 1998.

McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine reproduction**. 3.ed. Filadelfia: Lea & Febiger, p.1322, 1993.

MEDEIROS, A.S.L.; *et al.* Cryopreservation of stallion sperm using different amides. **Theriogenology**, v.58, p.273–276, 2002.



MEDEIROS, A.S. **Utilização de vários tipos de amidas como agentes crioprotetores para espermatozoides de garanhões.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003..

MORRIS, L.H.; TIPLADY, C.; ALLEN, W.R. Pregnancy rates in mares after a thawed spermatozoa onto the uterotubal junction. *Equine Vet J.* v. 35(2); p. 197-201, 2003.

PAPA, F.O.; *et al.* Replacing egg yolk with soybean lecithin in the cryopreservation of semen from stallions. **Animal Reproduction Science**, v.129, n.1-2, p.73-77, 2011.

PAYAWAL, S.R., LOWE, B.; STEWART, G.F. Pasteurization of liquid-egg productis, 2, effect of heat- treatments on appearance and viscosity. **Food Res**, v.11 p.246, 1946.

PILLET, E.; *et al.* Liposomes as an alternative to egg yolk in stallion freezing extender. **Theriogenology**, v.77, n.2, p.268-279, 2012.

REECE, W. O. **Fisiologia de animais domésticos**, 1ª Ed., São Paulo, Roca, p. 261-279, 1996.

RODRIGUEZ-MARTINEZ H. Evaluation of frozen semen: traditional and new approaches. In: Chenoweth PJ. Topics in bull fertility, 2000.

SALAZAR JR, J.L.; *et al.* Effect of cryopreservation protocol on posttaw characteristics of stallion sperm. **Theriogenology**, v.76, n.3, p.409-418, 2011.

SAEG: UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV. Sistema de análises estatísticas e genéticas – SAEG. Versão 9.1. 142p. Viçosa, MG, 2007.

SIEME, H.; HARRISON, R.A.P.; PETRUNKINA, A.M. Criobiológicos determinants of semen quality , with special reference to the stallion. **Animal Reproduction Science** v.107, p.276-292, 2008.

SNOECK, P.P.N.; HENRY, M.; MELO, M.I.V. Efeito de diferentes diluidores sobre a viabilidade espermática pós descongelamento de sêmen equino. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.1, p.56-64, 2007.

SWANSON EW, BEARDEN HJ. An eosin/nigrosin stain for differentiating live and dead spermatozoa. **J Anim Sci**, v.10, p.981-987, 1951.

TISCHNER, M. Evaluation of deep-frozen seen in stallions. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, v. 27, p. 53-59, 1979.

TÖPFER-PETERSEN E.; *et al.* The role of stallion seminal proteins in fertilization. **Anim Reprod Sci**, v.89, p.159-170, 2005.

TOSHIMORI, K. Dynamic modification of mammalian spermatozoa membrane leading to fertilization : a cytological study. **Journal Of Electron Microscopy**, v.60, p.31-42, 2011.

TRIMECHE, A.; RENARD, P.; TAINURIER, D. A procedure for Poitou jackass sperm cryopreservation. **Theriogenology**, v. 50, p. 893 – 806. 1998.



VALLE, G.R.; FILHO, J.M.S. Membrana plasmática do espermatozoide. **Caderno técnico de veterinária e zootecnia**, n.36, p45-53, 2001.

VIDAMENT, M.; *et al.* Differences in ability of jennies and mares to conceive with cooled and frozen semen containing glycerol or not. **Animal Reproduction Science**, v. 112, p. 22 – 35. 2009.

WARING, G.H. Horse behavior- NY-EUA: William Andrew Publishing. p 163,173,174, 2003.

WATSON, P.F. The preservation of semen in mammals. In FINN CA, ed. **Oxford reviews of Reproduction Biology**, v.1, p.283-330, 1979.

WATSON, P.F. The roles of lipid and protein in the production of ram spermatozoa at 5°C by egg-yolk lipoprotein. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.62, n.2, p.483-492, 1981

WATSON, P. F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Animal Reproduction Science**, n. 60-61, p. 481-492. 2000.

YANAGUIMACHI, R. In. E. KNOBIL, J. D. NEILL (Eds.), **The Physiology of Reproduction**, Raven Press, New York, p. 189-317, 1994.

TUMOR OVARIANO EM ÉGUAS – RELATO DE CASO

Acadêmicas: Isabela rocha Verner

Laís da Silva Santos

Orientadora: Bruna Waddington de Freitas

RESUMO

Diversas afecções ováricas podem causar prejuízos na reprodução equina. Dentre elas destacam-se os hematomas, abscessos e torções ovarianas e, dentre os distúrbios neoplásicos, o tumor das células da granulosa (TCG) pela sua alta incidência. Outros tipos de tumores menos comuns são os de células germinativas, os mesenquimatosos e o de células da teca (tecoma), considerado mais raro. Porém, os tecomas apresentam similaridades com os TCGs tais como, a prevalência da forma benigna e unilateral, sinais clínicos de anestro prolongado, ninfomania e comportamento de garanhão. O diagnóstico é realizado através da palpação e ultrassonografia transretal, dosagens hormonais e análise histopatológica. O tratamento indicado é a ovariectomia, sendo o prognóstico após a cirurgia bom. O presente trabalho descreve dois casos de éguas com histórico de anestro prolongado e alterações comportamentais. À palpação retal, ambas apresentavam um dos ovários aumentado de tamanho, que ao exame ultrassonográfico, evidenciava estruturas císticas anecoicas. As éguas foram submetidas à ovariectomia e, após avaliação histopatológica do tecido, o diagnóstico conclusivo foi de tecoma e fibrotecoma.

PALAVRAS-CHAVE: égua; tecoma; tumor ovariano.

INTRODUÇÃO

As fêmeas equinas possuem aspectos singulares na endocrinologia reprodutiva. Com isso, vários fatores podem causar prejuízo à fertilidade da égua, sendo dentre eles os tumores ovarianos, que embora mais frequentes nas espécies canina e bovina, também são relatados em éguas e gatas (GHINTER, 1996; MCENTEE, 1990).

Os tipos de tumores ovarianos mais comuns em éguas são os das células da granulosa, teratoma, disgerminoma e cistoadenoma (MCKINNON e VOSS, 1992). Segundo McKinnon e Voss (1992), o tumor de células da granulosa (TCG) é normalmente o mais encontrado na espécie. De acordo com McCue *et al.* (1998) esse tipo de tumor representa 85% de incidência de tumores do sistema urogenital em fêmeas equinas e 2,5% de todos os tumores encontrados na espécie. A faixa etária mais acometida varia entre 2 e 20 anos de idade (MEAGHER *et al.*, 1977).

Os TCG consistem em diagnóstico diferencial para outros tumores raros, como o tecoma. Ambos são comumente benignos com maior incidência unilateral, sendo o ovário contralateral muitas vezes inativo e pequeno (GIFT *et al.*, 1992). Animais acometidos por essas neoplasias podem apresentar anestro prolongado,

estros contínuo ou intermitente e comportamento semelhante ao de garanhão (MCKINNON e VOSS, 1992). Há poucos relatos de éguas que demonstraram ciclos normais na presença do TCG, supondo que, para tanto, os tumores estejam em desenvolvimento precoce (NIE e MOMONT, 1992). O diagnóstico é dado com o histórico clínico, palpação retal, ultrassonografia e análise hormonal. O tratamento preconizado é a remoção cirúrgica do ovário acometido e o prognóstico reservado (MCCUE *et al.*, 2006; MCKINNON e VOSS, 1992).

Objetivou-se com este trabalho relatar dois casos de tumor ovariano de éguas atendidas no Hospital Escola da Faculdade Vértice/Univértix (Matipó-MG) e submetidas à ovariectomia e posterior identificação histopatológica.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

ANATOMIA DOS OVÁRIOS

Os ovários consistem em um par de glândulas, geralmente encontradas na região lombar da cavidade abdominal, a uma distância variável, caudal aos rins. Como a maioria dos órgãos abdominais, os ovários da égua são cobertos por peritônio (exceto a fossa ovárica) e estão suspensos na parede daquela cavidade por uma dobra dessa membrana serosa, o mesovário, que por sua vez constitui a parte mais cranial dos revestimentos peritoneais do trato genital feminino. Apresentam formato ovóide e superfície lisa, marcada por uma profunda depressão, a fossa ovárica, na qual ocorre a ruptura dos folículos maduros (ovulação). O ovário da égua pode ter diâmetro inferior a 2,5 cm, quando nenhum folículo em desenvolvimento está presente, ou de até 10cm no caso de presença de muitos folículos em desenvolvimento (FRANDSON, 2014).

Os ovários da égua, diferente das demais espécies domésticas, apresentam uma inversão das suas camadas, estando o córtex, que contém folículos em diferentes estágios de desenvolvimento ou em atresia, situado profundamente à camada medular, ou vascular, que encontra-se em posição superficial no parênquima do órgão. Esta última é formada por tecido conjuntivo altamente vascularizado com presença de nervos, vasos linfáticos e fibras musculares lisas, também referida como medula ovárica (KONIG e LIEBICH, 2009).

HISTOLOGIA OVÁRICA

O epitélio superficial ovariano comumente é cúbico ou colunar baixo, mas também pode ser achatado com o aumento da idade ou quando o ovário está aumentado. Pode ser cortada irregularmente por fendas, sendo que estas também estão revestidas pelo epitélio superficial. Os colos das fendas podem se fechar, deixando ilhotas de epitélio superficial no interior do córtex ovariano. A secreção fluida das células converte então estas ilhotas em cistos (cistos germinativos de inclusão), que são comuns (STEVENS e LOWE, 2001).

Durante o ciclo estral, as células epiteliais superficiais apresentam pouca alteração, porém é possível ocorrer alongamento das mesmas durante a gestação (STEVENS e LOWE, 2001).

O estroma cortical é composto por células fusiformes semelhantes a fibroblastos, densamente compactadas. Esse estroma ovariano possui três funções importantes:

- Oferece sustentação estrutural aos ovócitos em desenvolvimento;
- Origina a teca interna e a teca externa ao redor do folículo em desenvolvimento;
- Secreta hormônios esteroides (STEVENS e LOWE, 2001).

O número de gametas no ovário e seu aspecto varia com a idade. Embriologicamente eles são derivados de células germinativas primordiais, as quais se desenvolvem no saco vitelínico e migram para os ovários em desenvolvimento (STEVENS e LOWE, 2001).

Folículos primordiais possuem uma única camada de células achatadas arredondadas (células da granulosa). Esses folículos se desenvolvem na puberdade para produzir os folículos primários através da secreção cíclica do hormônio folículo estimulante (FSH). Com isso, ocorre o aumento dos ovócitos, o qual está associado ao aumento do tamanho das células da granulosa ao redor, as quais se tornam cúbicas ou colunares, denominado folículo primário unilaminar (STEVENS e LOWE, 2001).

Com a continuidade da secreção de FSH, as células da granulosa se multiplicam, produzindo um envoltório com várias camadas ao redor do ovócito em crescimento, chamada de zona pelúcida. Sendo agora conhecido como folículo primário multilaminar. A partir desse momento alguns folículos entram em atresia e

outros se desenvolvem formando os folículos secundários (STEVENS e LOWE, 2001).

Com a maturação contínua dos folículos, as camadas celulares da granulosa aumentam em espessura, sendo que a cápsula externa das células do estroma ovariano começam a se diferenciar em duas camadas. A camada interna de células do estroma (teca interna) aumenta de tamanho à medida que as células desenvolvem abundante retículo endoplasmático liso e mitocôndrias com cristas tubulares (características típicas das células que produzem hormônios esteroides) e começam a secretar estrógenos, para estimular a proliferação do endométrio em preparação para uma possível implantação de um embrião. A camada externa de células do estroma (teca externa) permanece pequena e compacta e não possui função secretora, sendo assim denominado folículo secundário (STEVENS e LOWE, 2001).

O folículo completamente maduro é denominado de folículo zoonário (de Graaf), no qual o ovócito possui uma camada externa de células da granulosa (*cumulus oophorus*) e está pronto para a ovulação (STEVENS e LOWE, 2001).

PATOLOGIAS OVÁRICAS DE ÉGUAS

A hipoplasia ovariana ocorre em casos de crescimento e desenvolvimento inadequado dos ovários, resultando em órgãos infantis (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Há descrição em várias espécies, porém é mais relatada em vacas. Normalmente é encontrada bilateral e assimétrica. Nessa patologia os ovários acometidos mostram-se pequenos, sem folículos e em alguns casos, com cistos e sem sinais de ovulação (CARLTON e MCGAVIN, 1998).

Os cistos foliculares possuem origem nos folículos secundários do ovário que não consegue ovular, que involuem ou sofrem luteinização. Raramente ocorrem em éguas. Acredita-se que a causa seja a não secreção de LH durante o estro e devido a não reação do hipotálamo ao feedback positivo provocado pelos níveis mais elevados de estrógenos na circulação durante o início do estro, podendo ser a base subjacente para os cistos foliculares. Habitualmente apresentam tamanhos acima de 2 cm, podem secretar estrogênios num padrão acíclico, presume-se que sob a influência da continua estimulação pelo FSH. Essas estruturas estão associadas ao estro contínuo ou sinais clínicos de ninfomania (JONES *et al.*, 1997). Macroscopicamente os cistos foliculares podem ser solitários ou numerosos, podem

afetar um ou ambos os ovários, e se originam do interior do ovário, salientando-se na superfície desse órgão. Microscopicamente esses cistos estão revestidos por uma camada simples ou por diversas camadas de células da granulosa, que podem ter um aspecto normal, estar degeneradas, ou parcialmente luteinizadas. A teca interna está frequentemente espessada e pode estar parcialmente luteinizada. Os cistos foliculares não contêm ovócitos (JONES *et al.*, 1997).



MODIFICAÇÕES ESTRUTURAIS DOS OVÁRIOS

Os teratomas possuem origem das células germinativas ováricas primitivas e podem ser de dois tipos: os císticos benignos e malignos. Ocorre em maior incidência na forma unilateral e em animais jovens (diferente de outros tumores ovarianos). Há relatos desses tumores em cadelas, gatas, vacas e éguas. O tamanho pode variar, assim como a superfície, de lisa a pouco lobulada. Microscopicamente pode haver presença de outros tecidos como do epitélio respiratório, epitélio gastrointestinal, fígado, rim, baço, músculo liso cardíaco e estriado e há possibilidade de metástase (JONES *et al.*, 1997).

O tumor das células da teca, também conhecido como tecoma, é constituído somente pelo fenótipo das células da teca, o que ajuda a diferenciar do tumor das células da granulosa. Esse tipo de tumor ocorre em menor incidência e tem sido mais relatados em vacas e cadelas. Macroscopicamente, os tecomas são lisos, de consistência firme, sendo formados de folhetos sólidos de tecido branco, amarelo, ou alaranjado, que pode apresentar áreas de hemorragia e necrose. Normalmente essa neoplasia não apresenta cistos. Microscopicamente, observa-se que esse tumor é composto de folhetos difusos de células fusiformes arranjadas em feixes entrelaçados. Suas células têm longas protrusões citoplasmáticas polares, que normalmente contêm lipídeos, o que os difere de tumores com origem fibroblástica (JONES *et al.*, 1997).

Os tumores das células da granulosa possuem origem do estroma dos cordões sexuais e acredita-se ser de folículos anovulatórios no córtex ovariano, ou de túbulos medulares próximos à margem mesovárica. Normalmente ocorrem unilateralmente de forma benigna. São comuns em vacas e éguas, com faixa etária que varia entre 2 e 20 anos, porém há relatos em cadelas idosas. O TCG em éguas e vacas pode ocorrer por desequilíbrios hormonais sexuais de níveis plasmáticos como progesterona, estradiol e testosterona (JONES *et al.*, 1997).

Macroscopicamente, os tumores possuem aspectos variáveis: podem ser lisos ou exibir bossas, sólidos ou císticos e com coloração que varia do amarelo ao vermelho. Podem apresentar regiões de hemorragias e necrose. Microscopicamente as células neoplásicas podem apresentar padrão folicular, trabéculas, parecidos com células de Sertoli e até cístico de tamanho variável, com presença de líquido claro ou hemorrágico (JONES *et al.*, 1997).

Na maioria dos tumores, as células neoplásicas se parecem com as células da granulosa normais, por serem pequenas, poliédricas, com escassa quantidade de um citoplasma eosinofílico, e com núcleos hipercromáticos redondos a ovoides, com nucléolos bem diferenciados. No interior dos tumores, as células neoplásicas por ter um aspecto mais fusiforme, parecendo-se mais com as células da teca; em outras áreas, as células neoplásicas são grandes e poligonais, contendo um citoplasma eosinófilo abundante, e se parecem com células da teca ou granulosa luteinizadas (JONES *et al.*, 1997, p. 1180)

Estruturas de forma redonda e oval que consistem de um espaço central pequeno são conhecidos como Call-Exner e possuem um líquido folicular eosinofílico circundado por uma orla de células da granulosa. Quando há presença do Call-Exner o tumor é diagnosticado como sendo das células da granulosa, mas não é sempre encontrado, especialmente em tumores maiores (JONES *et al.*, 1997).

Os sinais clínicos característicos de fêmeas portadoras de tecoma e tumor de células da granulosa são alterações comportamentais como ninfomania (o animal monta em outros animais do rebanho ou plantel) ou gestos masculinos (aumento de espessura de cabeça e pescoço, elevação da raiz da cauda, desenvolvimento de vocalização e comportamento parecido com de machos). Pode ocorrer em fêmeas não prenhes ou gestantes (JONES *et al.*, 1997). O diagnóstico desses tumores é baseado no histórico clínico; palpação retal com aumento de tamanho do ovário acometido e ovário contralateral normalmente inativo; ultrassonografia, onde na maioria das vezes é identificada imagens de cistos; dosagem hormonal de progesterona, inibina, LH, FSH e testosterona; e histopatologia do tecido (MCCUE *et al.*, 2006; LEY, 2013).

O tratamento das neoplasias ovarianas é feito com ovariectomia do ovário acometido, sendo que as éguas comumente retornam à ciclicidade/fertilidade normal em 3 a 12 meses (LEY, 2013).

RELATO DE CASO

Caso 1

Histórico

Uma égua da raça Campolina, com 12 anos de idade, foi encaminhada ao Hospital Escola Veterinário da Faculdade Vértice, com histórico clínico de anestrose prolongado, com características físicas masculinizadas e comportamento de garanhão. À anamnese o proprietário relatou que se tratava de uma égua doadora de embriões com histórico reprodutivo normal. O animal vivia a pasto e tinha contato com outros equinos. Até o momento da consulta não haviam sido administrados medicamentos.



Achados clínicos

Ao exame clínico, o animal apresentou-se responsivo ao meio, com frequência cardíaca (FC) 42 batimentos por minuto (bpm), frequência respiratória (FR) 20 movimentos por minuto (mpm), tempo de perfusão capilar (TPC) < 2, mucosas (ocular, oral, nasal e vaginal) normocoradas, linfonodos (parotídeo e sub-escapular) normais, temperatura retal 38° C e 445 kg de peso corporal. À palpação transretal, o ovário esquerdo encontrava-se aumentado de volume e com consistência fibroelástica. No exame ultrassonográfico foi evidenciada, no ovário esquerdo, estruturas císticas anecóicas de diferentes diâmetros, sendo difícil a mensuração do órgão devido à sua dimensão (figura 1). O ovário contralateral apresentava-se sem a presença de componentes hormonalmente ativos (folículos e corpos lúteos).

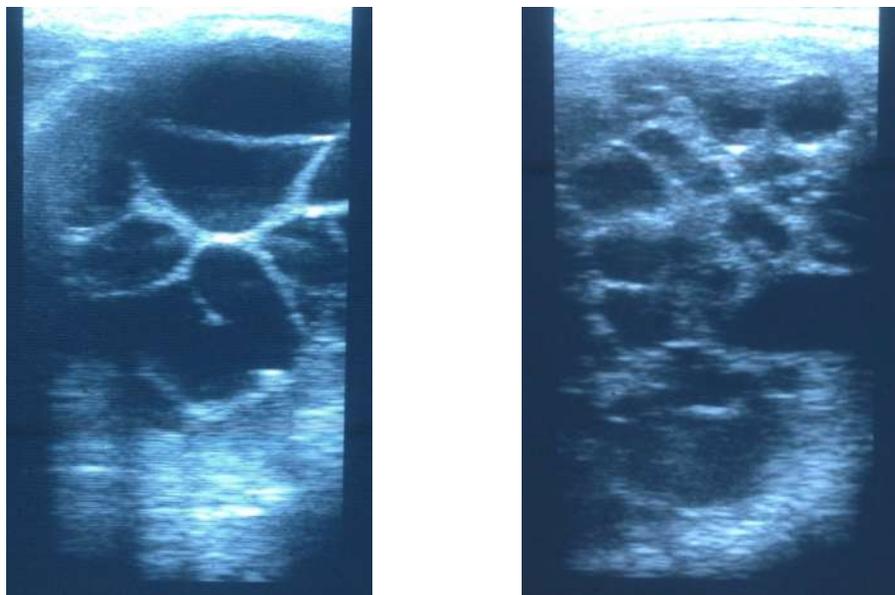


Figura 1: Imagem ultrassonográfica do ovário esquerdo com presença de tecidos trabeculares de difícil mensuração.

Em função dos achados clínicos, o animal foi submetido à coleta de sangue para dosagem hormonal (estradiol, progesterona e testosterona).

Tratamento

O animal foi encaminhado para ovariectomia, por se tratar do tratamento recomendado para tumores ovarianos, o que correspondia à principal suspeita diagnóstica. Como medicação pré-anestésica foi utilizada acepromazina (Aceproven 1%, Vencofarma®) 0,05mg/kg, via intramuscular (IM) e cloridrato de detomidina (Dormiun V, Agener União®) 0,02mg/kg por via intravenosa (IV). A indução anestésica foi feita Éter Gliceril Goiacol (EGG, Enrifarma®) 10g/100kg, diluído em 500ml de soro glicosado e cloridrato de cetamina (Ketamina 10%, Agener União®) 2mg/kg IV. A égua foi mantida em decúbito dorsal e a manutenção anestésica feita com isoflurano (Isoflurano, Biochimico®), por inalação à 4,5 litros de volume de oxigênio com saturação à 2%.

A superfície ventral do abdome foi preparada assepticamente para realização da celiotomia mediana pré-retro-umbilical. Após celiotomia exploratória, a massa ovárica foi identificada, o pedículo ovariano ligado com fio catigut número 3 (Shalon®) e o ovário retirado da cavidade peritoneal. As suturas realizadas de subcutâneo e pele foi simples contínuo com nylon 0 (Technofio®). Para o pós operatório foi administrado flunixin meglumina (Niglumine, Hertape Calier®) 1,1 mg/kg IV durante 5 dias e enrofloxacino (Zelotril 10%, Agener União®) 5mg/kg IV por 7 dias.

Diagnóstico

O ovário retirado foi encaminhado para o Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV) para avaliação histopatológica. À avaliação macroscópica, o ovário apresentava de 15 cm x 15 cm de diâmetro (figura 2). A superfície externa apresentava-se lisa, lobulada e flutuante. A superfície de corte apresentava-se de cor amarelada sem evidência de necrose ou hemorragia, com líquido seroso amarelo-alaranjado (figura 2).



Figura 2: Imagem do ovário esquerdo acometido, logo após a ovariectomia.

Fragments do tecido ovariano (1 cm^3) foram fixadas em formalina 10% neutra e tamponada para avaliação histopatológica. As amostras foram processadas pela técnica rotineira de inclusão em parafina e coradas com hematoxilina e eosina. Na avaliação histológica, foi observada proliferação de células fusiformes vacuolizadas, com núcleos ovalados, arranjadas em redemoinho, compatível com diagnóstico de tecoma.

Os ensaios hormonais revelaram alta concentração de testosterona (85,6 ng/ml; valores de referência: menor que 10 ng/ml) e concentração normal de progesterona (0,20 ng/ml; valores de referência: anestro/estro – menor que 1,0 ng/ml; diestro/gestação – maior que 1,0 ng/ml), ambos pelo método de quimioluminescência. A dosagem de estradiol foi realizada pelo método de radioimunoensaio e resultou em concentração 74,9 pg/ml (valores de referência: diestro, até 50 pg/ml; estro, até 300 pg/ml; SAMPER et al., 2007). Trinta dias após a cirurgia, as concentrações hormonais foram: testosterona, inferior a 4,0 ng/ml; progesterona, 0,12 ng/ml; e estradiol, 153,6 pg/ml.

Caso 2:

3.2.1. Histórico

Uma égua de 6 anos de idade, sem raça definida, foi encaminhada ao Hospital Escola Veterinário da Faculdade Vértice com relato recente de aborto aos 6 meses de gestação. À anamnese o proprietário se queixou de anestro prolongado e comportamento de garanhão. A mesma vivia a pasto com outras éguas.

3.2.2. Achados clínicos

Ao exame clínico, o animal apresentou-se responsivo ao meio, FC 36 bpm, FR 16 mpm, TPC < 2, mucosas (ocular, oral, nasal e vaginal) normocoradas, linfonodos (parotídeo e sub-escapular) normais, temperatura 37,8°C e com peso corporal de 337kg. À palpação transretal, o ovário direito encontrava-se aumentado de volume e com consistência fibroelástica. No exame ultrassonográfico foi evidenciada, no ovário direito, estruturas císticas anecoicas de diferentes diâmetros e o órgão foi mensurado com aproximadamente 5,0 x 4,2 cm de diâmetro (figura 3). O ovário contralateral apresentava-se sem a presença de componentes hormonalmente ativos (folículos e corpos lúteos).

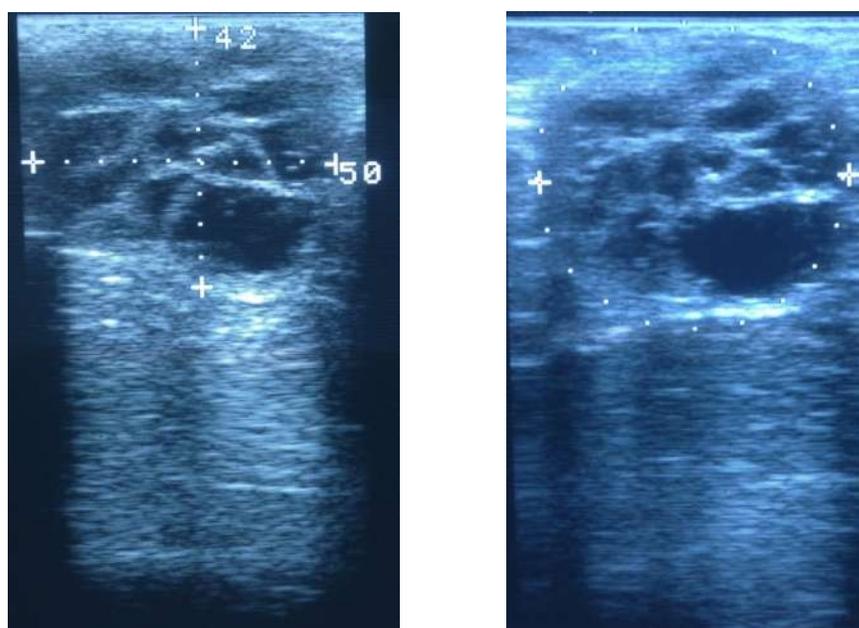


Figura 3: Imagem ultrassonográfica do ovário direito com aproximadamente 5,0 x 4,2 cm de diâmetro e presença de estruturas trabeculares.

Em função dos achados clínicos, o animal foi submetido à coleta de sangue para dosagem hormonal (estradiol, progesterona e testosterona).

3.2.3. Tratamento

A égua foi submetida à ovariectomia por laparotomia direita para tratamento como indicação. Foi administrado cloridrato de detomidina (Dormiun V, Agener União®) 0,02mg/kg IV; lidocaína (Lidocaina, Hypofarma®), via sub-cutânea no local da incisão e entre os processos das vertebrae lombares L2 e L3. A cirurgia foi realizada com o animal em estação.

Após a assepsia da região do flanco direito, foi realizada incisão de pele, subcutâneo, músculo oblíquo externo, músculo oblíquo interno e músculo transverso. O ovário acometido foi ectomizado e o pedículo ovariano ligado com fio catigut número 3 (Shalon®). As suturas realizadas de músculos foi em X com catigut 3 (Shalon®), subcutâneo e pele foi simples contínuo com nylon 0 (Technofio®). Para o pós operatório foi administrado flunixinina meglumina (Niglumine, Hertape Calier®) 1,1 mg/kg IV, durante 5 dias e enrofloxacino (Zelotril 10%, Agener União®) 5 mg/kg IV, por 7 dias.

3.2.4. Diagnóstico

O ovário retirado foi encaminhado para o Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV) para avaliação histopatológica. À avaliação macroscópica, o ovário apresentava de 5,5 x 6,0 cm de diâmetro. A superfície externa apresentava-se lisa, lobulada e flutuante. A superfície de corte apresentava-se de cor amarelada sem evidência de necrose ou hemorragia, com líquido seroso amarelo-alaranjado (figura 4).



Figura 4: Imagem do ovário direito acometido, logo após a ovariectomia.

Fragments do tecido ovariano (1 cm³) foram fixadas em formalina 10% neutra e tamponada para avaliação histopatológica. As amostras foram processadas pela técnica rotineira de inclusão em parafina e coradas com hematoxilina e eosina. A análise histopatológica evidenciou a presença de cistos associada com a proliferação de células fusiformes arranjadas em redemoinho com hemossiderose, compatível com tecoma. O ovário apresentava um segundo padrão histológico compatível com fibroma, sendo áreas de estroma fibroso composto por células fibroblásticas diferenciadas.

Os ensaios hormonais revelaram concentração normal de testosterona (4,3 ng/ml; valores de referência: menor que 10 ng/ml) e concentração normal de progesterona (0,60 ng/ml; valores de referência: anestro/estro – menor que 1,0 ng/ml; diestro/gestação – maior que 1,0 ng/ml), ambos pelo método de quimioluminescência. A dosagem de estradiol foi realizada pelo método de radioimunoensaio e resultou em concentração 116,1 pg/ml (valores de referência: diestro, até 50 pg/ml; estro, até 300 pg/ml; SAMPER *et al.*, 2007). Não foi possível a coleta de nova amostra sanguínea a fim de comparar as dosagens hormonais pré e pós tratamento, pois o animal veio a óbito 14 dias após a cirurgia.

DISCUSSÕES

Dentre as indicações clínicas mais comumente relacionadas à ovariectomia bilateral em éguas encontram-se alterações de comportamento sexual e redução do rendimento atlético durante o estro, enquanto que a cirurgia unilateral está mais frequentemente associada aos tumores ovarianos, que podem resultar em massa ovárica com diâmetros superiores a 20 cm (RÖCKEN *et al.*, 2011). Outras causas comuns ao aumento dos ovários estão relacionadas a condições não neoplásicas, como hematoma ovariano, abscessos e torção ovárica (RAOOFI *et al.*, 2006; BOSU *et al.*, 1982), que compõem relevantes diagnósticos diferenciais das neoplasias ovarianas. Nesses casos, a indicação à ovariectomia é possível e a avaliação histopatológica do tecido pode ser crucial para a conclusão diagnóstica do caso.

Em ambos os casos relatados, a avaliação histopatológica revelou características compatíveis com tecoma, embora uma das éguas (caso 2) tenha apresentado características teciduais relativas a fibroma concomitantemente.

Fibrotecoma é um tipo de tumor de origem mesenquimal que pertence ao grupo de tumores dos cordões sexuais. Trata-se de um tumor benigno, com raras manifestações malignas (WAXMAN *et al.*, 1979; KIM e PARK, 2012). O fibroma é composto por células fibroblásticas maduras que produzem colágeno abundantemente e o tecoma contém células da teca ou luteínicas. Células da teca e tecido fibroso são os principais elementos desse tipo de tumor (SCULLY *et al.*, 1996). Em alguns casos, a diferenciação entre fibroma e tecoma é difícil e a distinção torna-se impossível, especialmente em função da sobreposição entre achados histopatológicos e imunohistoquímicos (WAXMAN *et al.*, 1979; ROTH, 1995; KIM e PARK, 2012).

Em humanos, o fibrotecoma é um tumor incomum que ocorre antes e após a menopausa, embora relatos recentes o associem principalmente a mulheres mais velhas, em pós-menopausa (CHECHIA *et al.*, 2008; MAWAD e HASSANEIN, 1994; LAUFER *et al.*, 1996; TROIANO *et al.*, 1997). Uma vez sendo o fibrotecoma hormonalmente ativo, vários sinais clínicos podem ser observados. Esse tumor produz estrógeno e causa infertilidade por induzir falhas na ovulação e durante a implantação embrionária (AZIZI *et al.*, 2014).

No segundo caso relatado, o animal apresentava-se em anestro e suas análises hormonais revelaram aumento relativo somente à concentração de estrógeno plasmático (116,1 pg/ml). Embora a concentração desse hormônio tenha pouco valor diagnóstico preditivo (Stabenfeldt *et al.*, 1979), o caso reforça o funcionamento do eixo-hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Elevadas concentrações plasmáticas de estrógeno exercem *feed-back* negativo sobre a produção de GnRH pelo hipotálamo e FSH pela adeno-hipófise (SHAW *et al.*, 2010), resultando em quiescência ovariana. A égua em questão apresentava-se em anestro, com ovário direito aumentado de tamanho e aparência ultrassonográfica policística, estando, na ocasião, o ovário contralateral inativo (ausência de folículos e corpos lúteos).

Nos casos de tecomata descritos na literatura científica, a maioria não indica aumento da dosagem sérica de progesterona (NÓBREGA *et al.*, 2008). Baixas concentrações desse hormônio indicam a inexistência de tecido luteal, conforme foi observado em ambas as éguas atendidas no Hospital Escola da Univértix.

Embora seja comum éguas portadoras de tecomata apresentarem alterações de comportamento, de acordo com Raofi *et al.* (2006), não foi o padrão observado no segundo caso, em função da concentração normal de testosterona plasmática (4,3 ng/ml). Esse caso contrasta com relato descrito por Nóbrega *et al.* (2008) e com o primeiro caso relatado no presente trabalho, em que ambas as fêmeas apresentavam, além de anestro persistente, engrossamento de pescoço, temperamento agressivo e comportamento de garanhão, em consequência do aumento nos níveis de testosterona plasmática (18 ng/dl e 85,6 ng/ml, respectivamente). Em mulheres, McGee *et al.* (2009) reportou o caso de uma adolescente de 15 anos, portadora de tecomata, com amenorreia, sugerindo que a interrupção da função ovulatória normal poderia ter ocorrido em função da secreção de testosterona pelo tumor, inibindo a foliculogênese e alterando consequentemente a dinâmica gonadotrófica.

No primeiro caso, após 30 dias da ovariectomia, as concentrações plasmáticas de testosterona encontravam-se normalizadas (< 4,0 ng/ml), porém com aumento considerável de estrógeno (153,6pg/ml). Na ocasião, não foi possível a avaliação dos ovários para verificar sua atividade, porém na estação de monta subsequente (6 meses após a cirurgia), a égua retomou sua função habitual como doadora de embriões. Nóbrega *et al.* (2008) também reportaram o caso de uma égua portadora de tecoma produtor de testosterona que retomou a atividade ovariana após a retirada do tumor.

A ovariectomia é o tratamento indicado para neoplasias ováricas, particularmente em casos de desconforto abdominal ou com possibilidade de metástase (McCue, 2011). A escolha da técnica cirúrgica deve ser baseada no tamanho do ovário afetado, condição financeira do proprietário e disponibilidade de equipamentos adequados ao procedimento. A laparotomia apresenta como vantagem a melhor visibilidade e maior facilidade na manipulação do pedículo ovariano. Trata-se de uma técnica simples e de baixo custo (PRESTES *et al.*, 2013). Já a celiotomia é mais indicada em casos de animais sensíveis ou agressivos (YARBROUGH, 2009), de risco de perda da integridade física do animal ou do veterinário ou quando o ovário afetado apresenta diâmetro superior a 15 cm (GÜNDÜZ *et al.*, 2012). Em ambos os casos reportados, a escolha da técnica cirúrgica esteve de acordo com os preceitos recomendados.

A análise macroscópica e microscópica do material obtido é essencial para definição diagnóstica de qualquer neoplasia ovariana. Em ambos os casos a suspeita inicial era de se tratarem de TGC não só em função dos aspectos clínicos e ultrassonográficos, como também pela sua maior ocorrência em éguas. Macroscopicamente, os ovários apresentavam o aspecto clássico de TGC, com coloração rosácea, estrutura policística e presença de líquido seroso de coloração característica.

Porém, os achados microscópicos foram similares aos encontrados em outros casos relatados de tecoma em éguas (PRESTES *et al.*, 2013; RAOOFI *et al.*, 2006), com células fusiformes com núcleos alongados, citoplasma fracamente eosinofílico, intensa presença de vacúolos e com áreas de redemoinho com crescimento desordenado (NÓBREGA *et al.*, 2008). Além dessas características, o ovário referente ao caso 2 apresentava ainda algumas áreas com hemossiderose e um segundo padrão histológico que consistia de regiões localizadas no estroma,

compostas de células fibroblásticas com abundante conteúdo colágeno e em formato de espinha de peixe, consistente com quadro típico de fibroma.

O prognóstico após a remoção de tumores ovarianos é bom tanto em mulheres quanto em animais. Embora o tecoma seja raramente relatado em éguas, ele deve ser incluído como diagnóstico diferencial dos tumores ovarianos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os tumores das células da granulosa e o tecoma podem ser de difícil diferenciação por apresentarem sinais clínicos semelhantes. Embora os TCGs sejam bem descritos na literatura, poucos são os relatos de tecoma em éguas, o que pode acarretar em diagnósticos pouco precisos em relação a esse tumor. Em função disso, pode-se considerar a análise histopatológica do ovário acometido fundamental para determinação do diagnóstico conclusivo de tumores ovarianos.

REFERÊNCIAS

AZIZI, S.; NOURBAKHS, M.; KHEIRANDISH, R.; Ovarian Fibrothecoma in an Arabian Mare: A Rare Case. **Journal of Equine Veterinary Science** 34, 2014

BOSU, W. T. K. *et al.* Ovarian disorders: Clinical and morphological observations in 30 mares. **The Canadian Veterinary Journal**, 23:6-14. 1982.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D.; **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 1998.

CHECHIA, A. *et al.* Incidence, clinical analysis, and management of ovarian fibromas and fibrothecomas. Am **Journal Obstetrics Gynecology**, 2008

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D.; **Anatomia e Fisiologia dos Animais de Fazenda**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014

GIFT, L. J.; GAUGHAN, E. M.; SCHONING, P. Metastatic granulosa cell tumor in a mare. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 200:1525-6, 1992.

GINTHER, O.J. *et al.* Selection of dominant follicle in cattle. **Biology Reproductive**. v.55, p.1187-1194, 1996

GÜNDÜZ, M. Z. *et al.* Reproductive performance following unilateral ovariectomy for treatment of ovarian tumors in 7 mares. **Turkish Journal Veterinary Animal Science**. 2012

HAFEZ, B.; HAFEZ E. S. E.; **Reprodução Animal**. 7ª ed. Barueri, SP: Manole, 2004



JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6ª ed. Barueri: Manole, 1997.

KIM, S. K.; PARK, J. W. A case of malignant fibrothecoma of the ovary. **Korean Journal of Obstet Gynecol** 2012; 55(3):187–91.

KONIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos animais domésticos**. 4ª ed. Nova York: Artmed, 2009.

LAUFER, L. *et al.* MARES, A. Ovarian fibroma in a prepubertal girl. **Pediatrics Radiology**. 1996

LEY, W. B.; **Reprodução em Éguas: Para Veterinários de equinos**. São Paulo: Roca, 2013

MAWAD, N. M.; HASSANEIN, O. M. Ovarian fibro-thecoma in a 19 years old Sudanese girl. Gynaecological case report. **Clinical And Experimental Obstetrics e Gynecology**. 1994

MCCUE, P. M.; TAYLOR, H.B.; GARNER, F. M. Neoplasia of the female reproductive tract. **Veterinary Clinic Equine**, 14:505–15, 1998.

MCCUE, P. M. *et al.* Granulosa Cell Tumors of the Equine Ovary, **Veterinary Clinics of Equine Practice**, v. 22, 2006.

MCCUE, P. M. Ovarian diseases. In: Robinson NE, Sprayberry KA, editors. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2009. p. 811-4.

MCENTEE, K. **Reproductive Pathology of Domestic Mammals**. San Diego, California: Academic Press Limited, 1990.

MCGEE, J. *et al.* Virilizing luteinized thecoma of the ovary in a 15-year-old female: a case report. **Journal Pediatric Adolescence Gynecology**. 2009

MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. **Equine Reproduction**. Malvern, Pennsylvania: Lea e Febiger, 1 ed; 1992.

MEAGHER, D. M.; WHEAT, J. D.; HUGHES, J. P.; *et al.*, **Granulosa cell tumors in mares da review of 78 cases**. American Association of Equine Practitioners, 23:133–43, 1977

NIE, G. J.; MOMONT, H. Ovarian mass in three mares with regular estrous cycles. **Journal American Veterinary Medical Association**, 1992.

NÓBREGA, F. S. *et al.* Tecoma em uma égua. **Acta Veterinary Science**, v. 36, p. 185-189. 2008.

PRESTES, N. C. *et al.* Ovarian Tumor in a Mare – Thecoma - Case Report. **Journal of Equine Veterinary Science** 33. 2013

PRIV-DOZ, M. R. *et al.* Unilateral and Bilateral Laparoscopic Ovariectomy in 157 Mares: A Retrospective Multicenter Study. **Veterinary Surgery**. v.40, 2011



RAOOFI, A. *et al.* Thecoma in a mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.16, 2006.

ROTH, L. M. Sex cord-stromal tumours of the ovary. In: Fox H, Wells M, editors. **Haines and Taylor obstetrical and gynecological pathology**. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995. p. 823–43.

SCULLY, R. E.; YOUNG, R. H.; CLEMENT, P. B.; Atlas of tumor pathology: tumors of the ovary, maldeveloped gonads, fallopian tube and broad ligament. Washington DC: **Armed Forces Institute of Pathology**; 1996. p. 189–201.

SHAW, N. D. *et al.* Estrogen negative feedback on gonadotropin secretion: evidence for a direct pituitary effect in women. **Journal Clinic Endocrinologia Metabolism**; 95(4); 1955-61, april, 2010.

STABENFELDT, G. H. *et al.* (1979) Clinical findings, pathological changes and endocrinological secretory patterns in mares with ovarian tumours. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**. 27, 277-285.

STEVENS, A.; LOWE J. **Histologia Humana**. Manole. São Paulo, SP: 2 ed, 2001.

TROIANO, R. N. *et al.* Fibroma and fibrothecoma of the ovary: MR imaging findings. **Radiology**. 1997.

WAXMAN, M. *et al.* **Ovarian low-grade stromal sarcoma with thecomatous features: a critical reappraisal of the so-called “malignant thecoma.”** Cancer 1979;44: 2206–17.

YARBROUGH, T. B.; Ovariectomy techniques. In: Robinson NE, Sprayberry KA, editors. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2009.

TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS



Acadêmicos: Cássio Alves De Paula

José Carlos Alves De Paula

Orientadora: Bruna Waddington de Freitas

RESUMO

O crescimento do desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida aplicada a equinocultura tem se tornado fator fundamental para o sucesso e crescimento do setor. Com isso a transferência de embriões demonstra-se indispensável em programas de melhoramento genético, pois a partir dessa biotecnologia, vem se tornando possível a exploração de animais geneticamente superiores em um menor tempo, com grande vantagem de aumentar a venda de embriões prontos, a comercialização de coberturas de garanhões e um maior fluxo de animais jovens aumentando a movimentação financeira, além disso a TE tem suma importância no controle de doenças sexualmente transmissíveis e no melhoramento genético. Mas, apesar disso a TE apresenta limitações como a necessidade de mão de obra qualificada, manejo nutricional e sanitário e qualidade de animais disponíveis. Neste trabalho foi mostrado dados referentes a seleção de doadoras e receptoras, manipulação de ciclo estral, sincronização do ciclo estral, avaliação embrionária, técnicas de colheita e transferências de embriões em equinos, fatores que influenciam na TE equina (qualidade no transporte de sêmen etc). O objetivo foi abordar considerações relevantes sobre as possíveis técnicas aplicadas na TE, a fisiologia reprodutiva da égua, e pesquisar os fatores importantes que possam intervir diretamente nos resultados obtidos num programa de TE.

PALAVRAS - CHAVE: Equinocultura; Embriões; Transferência de Embriões; Equinos.

INTRODUÇÃO

O crescimento e a difusão da equinocultura têm ganhado destaque no cenário do agronegócio brasileiro. De acordo com dados publicados pela FAO, em 2008, o Brasil possuía, nesse ano, a quarta maior população de equinos do mundo, com mais de 5,5 milhões de animais. Tal representatividade revela uma movimentação econômica de cerca de R\$ 7,3 bilhões, gerando 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos, segundo pesquisa realizada por pesquisadores da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em 2006. Com isso, a equinocultura representa um importante setor no agronegócio brasileiro, deixando de ser apenas destinada para a criação de animais para tração e transporte e passando a figurar em outros cenários economicamente rentáveis.

Diante dessa condição, a demanda pelo desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida e de aplicabilidade na equinocultura tem se tornado fator fundamental para o sucesso e contínuo crescimento do setor. Com isso, a transferência de embriões (TE) demonstra-se indispensável em programas de melhoramento genético, pois, a partir da aplicação desta biotecnologia, é possível a exploração de animais geneticamente superiores em um menor espaço de tempo (ANDRADE, 1986).

A TE traz consigo a grande vantagem de aumentar a comercialização de coberturas de garanhões consagrados, venda de embriões prontos e maior fluxo de animais jovens, obtendo assim maior movimentação financeira (LOPES, 2004). Além dessas vantagens, a TE também tem papel importante no controle de doenças sexualmente transmissíveis (ARRUDA *et. al.*, 2001), na possibilidade de obtenção de descendentes de animais com problemas reprodutivos, que estejam em competição, ou até mesmo de éguas idosas, otimizando assim o melhoramento genético do plantel (MERKTET *et. al.*, 2000; LOPES, 2002; SQUIRES *et. al.*, 2003).

Mesmo com tantas vantagens, a TE apresenta algumas limitações, como a necessidade de mão de obra qualificada, infraestrutura adequada e consequente aumento no custo da criação dos animais (LOPES, 2004). Além disso, embora sendo a TE menos complexa que outras biotecnias aplicadas à reprodução, as dificuldades encontradas são relacionadas ao manejo nutricional e sanitário e à qualidade e quantidade de animais disponíveis para o estabelecimento do programa (HINRICHS, 2005).

Dentre as biotecnologias mais aplicadas na reprodução de equinos, a TE se destaca juntamente com a inseminação artificial (IA). O Brasil encontra-se entre os três países em que mais se aplicam esta biotecnologia, sendo que as raças que mais a utilizam são Mangalarga Machador, Mangalarga Paulista, Campolina, Quarto de Milha e o Cavalinho Crioulo. Para tanto, é importante ressaltar o apoio das associações de criadores ao abrirem as portas para estas biotecnologias dentre outras que possam melhorar a qualidade das raças brasileiras (LOSINNO E ALVARENGA, 2006).

OBJETIVO

O objetivo a ser alcançado com o presente trabalho consiste em revisar o conteúdo disposto na literatura científica acerca da transferência de embriões em equinos.

Para tanto foram estipulados alguns objetivos específicos, tais como:

- Abordar considerações relevantes sobre fisiologia reprodutiva da égua;
- Investigar sobre diferentes protocolos hormonais aplicados em um programa de TE, bem como as possíveis técnicas para execução da mesma;
- Pesquisar sobre fatores importantes que possam intervir diretamente nos resultados obtidos em um programa de TE.

METODOLOGIA

A metodologia aplicada para a realização deste trabalho foi baseada em pesquisa bibliográfica qualitativa, oriunda de livros e dados disponíveis em meio eletrônico (*internet*) existentes na área (dissertações, teses, artigos científicos, etc.).

HISTÓRICO DA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS.

Os primeiros estudos acerca da TE em equinos foram realizados em 1969 por um grupo de pesquisadores japoneses. Estes autores obtiveram, uma taxa de 45% de sucesso nas colheitas dos embriões, porém sem nenhuma concepção confirmada (OGURI E TSUTSUMI, 1972). Após dois anos, os mesmos pesquisadores, coletando 18 embriões de 20 éguas, transferiram 15 destes pelo método não cirúrgico transcervical para éguas receptoras em sincronismo de -5 há +7 dias em relação às éguas doadoras e obtiveram um percentual de concepção de 40% dos embriões transferidos (OGURI E TSUTSUMI, 1974).

Já o primeiro relato de nascimento de um produto proveniente de um programa de transferência de embriões se deu em 1972, na Inglaterra, através da técnica cirúrgica (ANDRADE, 1986).

No Brasil, a transferência de embriões na espécie equina teve seu início em 1987, sendo introduzido no país pelo Médico Veterinário João Junqueira Fleury utilizando o método cirúrgico (FLEURY *et. al.*, 1987), e por Marc Henry e Cezinande Meira pelo método não cirúrgico (HENRY E MEIRA, 1987). Atualmente, o país destaca-se como o maior produtor de embriões do mundo, sendo, Minas Gerais e São Paulo, os estados de maior produção (ALVARENGA, 2010).

No país, as raças que mais se têm aplicado esta técnica são a Mangalarga Paulista e o Machador, Campolina, Quarto de Milha e, com a liberação da Associação Brasileira dos Criadores de Cavalos Crioulos, estes números tendem a crescer. Outros países como Argentina e EUA também usam esta técnica mas não ultrapassam o Brasil nesta produção (LOSINNO; ALVARENGA, 2006)

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DO CICLO ESTRAL DA ÉGUA

A égua é considerada um animal poliéstrico sazonal, sendo a sua atividade reprodutiva regulada pelo fotoperíodo e considerada como sendo mais favorável a reprodução durante as épocas em que os dias apresentam maior luminosidade. Em regiões com estações climáticas bem delimitadas, as éguas entram em atividade sexual no período de primavera-verão, sendo que poucos animais ciclam entre outono e inverno (DAELS E HUGHES, 1993)

O ciclo estral da égua dura em média de 19 a 22 dias, sendo que o estro (fase folicular ou estrogênica) dura de 5 a 7 dias, e o diestro (fase lútea ou progesterônica) de 14 a 17 dias (DAELS E HUGHES, 1993)

Na fase do estro, a égua encontra-se receptiva ao garanhão, de forma que a ovulação que irá ocorrer de 24 a 48 horas antes do fim do mesmo (DAELS E HUGHES, 1993). Já o diestro é a fase caracterizada pela não receptividade da fêmea ao macho, com um ambiente uterino adequado para o desenvolvimento embrionário. Com a ovulação e a formação do corpo lúteo (CL), este CL tem como função de ajudar nos primeiros dias até que haja o reconhecimento do útero a nutrir este embrião. Não havendo o reconhecimento da gestação ocorre a lise do CL pela prostaglandina 2 α (PGF2 α) e dá-se início a um novo ciclo estral (DAELS E HUGHES, 1993; MALINOWSKY, 2002).

Segundo Ginther (1992) a onda folicular é basicamente um conjunto de folículos que mostram crescimento sincronizado, sendo que o crescimento preferencial é de apenas um, podendo ter dois ou três folículos no caso da espécie equina. As ondas foliculares são classificadas basicamente em primária e secundária. A onda primária terá início na metade do diestro que dá origem ao folículo ovulatório (> 35 mm). A onda secundária terá início durante o estro, resultando na formação de grandes folículos anovulatórios (>20 mm) ou, mais raramente, em ovulação durante o diestro. E podem ocorrer ondas que não irão formar folículos dominantes sendo então consideradas ondas menores (GINTHER, 1992).

Estudos realizados por diversos autores mostram que, em comparação com a dinâmica folicular entre diferentes raças, ocorre maior predisposição para duas ondas foliculares em éguas Puro Sangue Inglês (STABENFELDT *et. al.*, 1972), Apallosa e Quarto de Milha (GINTHER E BERGFELD, 1993). Meira e Buratini (1998), visando a caracterização do desenvolvimento folicular em éguas Mangalarga Marchador, monitoraram diariamente por ultrassonografia, folículos com diâmetro acima de 10 mm a partir do dia 17 do ciclo estral, e detectaram uma ou duas ondas foliculares em 81,25% (13/16) e 18,75% (3/16) dos ciclos, respectivamente.

A ocorrência de ovulações durante o diestro, observadas em éguas (ovulações secundárias com incidência de 25%) durante uma fase em que as concentrações de LH encontram-se baixas, com a presença de alta progesterona, sugere que o aumento pré-ovulatório de LH não é um pré-requisito absoluto para o

processo de ovulação nesta espécie. Como consequência, essas ovulações secundárias podem levar a uma condição de persistência luteal, já que no momento em que o endométrio está secretando PGF2 α , este CL secundário estaria refratário a ação luteolítica do mesmo (Daels, 1993).

Ovulações múltiplas (predominantemente duplas ovulações) podem acontecer normalmente, sendo esta característica uma variante individual de cada animal, podendo haver um fator hereditário envolvido (URWIN, 1983). A incidência de ovulações múltiplas em um determinado ciclo estral em éguas está entre 4 e 17 43%. Vários fatores como raça, predisposição genética e estágio reprodutivo têm influenciado a incidência de dupla ovulação (SQUIRES *et. al.*, 1987).

Carnevale, Mckinnon e Squires (1988) observaram folículos pré-ovulatórios e constataram que a ovulação ocorre num período de 5 a 90 segundos, com ou nenhum líquido folicular interno ao folículo após a ovulação. Nos equinos, a secreção do LH não acontece de maneira abrupta como nas outras espécies de mamíferos, sempre de maneira crescente e essa produção se inicia 6 a 8 dias antes da ovulação (Ginther, 1979). Sabe-se que o ponto alto da produção de LH será entre 1 a 3 dias pós-ovulação. Para que ocorra o sucesso na ovulação ela deve ser bem coordenada à maturação do oócito, a ruptura do folículo e a evacuação do fluido folicular (PIERSON, 1993).

SELEÇÃO DE DOADORAS

Sabe-se que o fator mais importante que vem afetando a TE e o manejo adequado tanto da doadora quanto o da receptora (SQUIRES, 2003). Os animais que serão utilizados num programa de TE devem apresentar o exame negativo de anemia infecciosa equina. Ao chegarem ao haras ou central devem passar por um exame físico geral e devem ser vacinadas e vermífugadas. Caso haja histórico reprodutivo, deverá ser bem avaliado com intuito de buscar características do ciclo estral do animal (duração, incidência de dupla ovulação), sabe-se que este dado pode ocorrer ano após ano. Em cada animal deve ser realizada uma boa avaliação reprodutiva antes que se possa entrar em programa de TE (RIERA, 2009).

O sucesso da TE exige que o útero da receptora que vai receber o embrião esteja na mesma fase em que o útero da doadora assim ambos têm que estar em diestro, para alcançar este objetivo faz-se o uso de hormônios exógenos (DAVIES MOREL, 2003). Sabe-se que muitas das vezes esta sincronização pode falhar assim

o que mais se indica e que se tenham no mínimo duas receptoras para cada doadora, para que se possa escolher o melhor ambiente em que o embrião será implantado (MCKINNON; SQUIRES, 2007). Segundo LOSINNO E ALVARENGA (2006) o desejado é que se tenha no mínimo 50% de receptoras ao total de prenhes que se deseja com a TE lembrando que pode haver o descarte de éguas que não estão aptas e eventuais mortes.

Alguns fatores são importantes para selecionar uma égua como doadora em um programa de TE, como histórico reprodutivo da égua, garanhão ou sêmen a ser utilizado, regulamento de registro de raça, custo procedimento, valor potencial do potro e número de produtos desejados. Hoje a TE é um procedimento caro, assim esta técnica fica aplicada a éguas com um valor genético superior buscando característica genética que acreditamos que possam ser herdáveis (RIEIRA, 2009). Assim o valor do potro, se do baseado no valor da TE que pode ser duas vezes mais que o valor da TE, em alguns casos os proprietários não olham o valor da TE (SQUIRES; MCCUE; VANDERWALL, 1999).

Animais mais velhos podem integrar este plantel de doadoras no programa de TE, muitas das vezes por causa dos resultados obtidos em sua carreira atlética e pela progênie comprovada (ALONSO et. al., 2005). Sabe-se muitos destes animais podem ter problemas reprodutivos tornando a eficiência reprodutiva baixa, fato que pode se explicar com distúrbios de ovulação, maturação oocitária ou por endometrite crônica (LOSINNO; ALVARENGA, 2006). Portanto sabe-se que animais mais idosos têm que ter uma atenção especial como nutrição adequada, evitar estresse ambiental e social e ficar em piquetes mais pertos dos locais onde vão ocorrer a TE evitando maiores deslocamentos (ALVARENGA, 2010).

Para que haja o maior controle sobre os animais que estão no programa de TE é necessário que se faça pelo menos um ou dois exames reprodutivos completo de dois ciclos estrais da égua doadora para que se tenha um histórico reprodutivo e se detectado qualquer anormalidade do trato reprodutivo que necessitam de tratamento que devem ser realizados antes de começar a utilizar a égua para a TE é necessário saber se o útero da doadora está limpo antes da IA, pois estes cuidados são recompensados com o aumento da taxa de TE (RIEIRA, 2006; VANDERWALL, 2000 E HARTMAN, 2011).

No manejo da doadora tem de ser feito palpação retal e ultrassonografia para que se possa avaliar o crescimento folicular (VANDERWALL, 2000). A partir do

segundo ou terceiro dia de estro a égua deve ser avaliada todos os dias, para controlar as mudanças foliculares e uterinas até a ovulação. Na maioria dos haras o garanhão não está na propriedade, usa-se sêmen resfriado ou congelado, sendo necessário que haja mais sincronia entre IA e ovulação, assim pode-se usar hormônios que estimulem a ovulação (SQUIRES, 2003)

SELEÇÃO DE ÉGUAS RECEPTORAS

Para que haja um sucesso no programa de TE deve se fazer o melhor para que os fatores que afetam a gestação passem a não interferir fazendo com que haja esta perda embrionária. (CARNEVALE *et al.*, 2000). SQUIRES, McCUE E VANDERWAL (1999) e CARNEVALE *et al.*, (2000) relatam que é de grande importância a escolha e manejo da receptora em um programa de transferência de embriões em equinos.

Para se escolher a receptora ideal deve se observar tamanho, idade, temperamento e desenvolvimento mamário. As receptoras necessitam ter um ciclo estral normal e serem livres de problemas reprodutivos (SQUIRES *et al.*, 1999; CARNEVALE *et al.*, 2000; LOPES, 2002; SQUIRES *et al.*, 2003).

Na avaliação das receptoras incluem-se: detecção de um CL visível (via ultrassonografia), e dobras endometriais e avaliação da parede uterina (DOWSETT; WOODWARD; BODERO, 1989). A análise combinada com o tônus uterino e cervical determinados pela palpação retal serão os principais critérios utilizados para a seleção da receptora (SQUIRES; MCKINNON; SHIDELER, 1988; CARNEVALE *et al.*, 2000).

A diminuição do tônus uterino de receptoras de embriões é indicativa de que o meio uterino não apresenta uma máxima compatibilidade com o crescimento e o desenvolvimento do embrião (CARNEVALE *et al.*, 2001), uma vez que MCCUE *et al.*, (1999) sugeriram que uma baixa concentração de progesterona aparentemente está relacionada a uma redução no tônus uterino e cervical.

MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL DA ÉGUA

Para que haja um encurtamento do espaço de 21 dias entre um cio e outro, pode ser utilizado a PGF2 α que será usada para fazer a lise do CL causando a regressão do mesmo e com isso o animal terá um novo cio (SAMPER 2008).

Também podem ser usadas outras técnicas como tratamentos com luz artificial, pois os equinos são animais poliéstricos estacionais assim o número de ovulações

ocorre em um período de tempo em que tem o maior período de luminosidade (ARRUDA, 1990). Assim, alguns haras aplicam esta técnica de manter os animais com o tratamento de luz artificial, estes animais apresentam mais atividades ovarianas normais entrando no cio isso pode ajudar na TE, pois é necessário um número de doadoras aptas a receber o embrião (NAGY *et. al.*, 2000).

SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL ENTRE DOADORAS E RECEPTORAS

A sincronização do estro e da ovulação tem como objetivo predeterminar a IA com ou sem a detecção de cio. Através da sincronização, é possível calcular o momento aproximado da ovulação da receptora, o que é fundamental para o sucesso num programa de TE (SQUIRES, 1993).

Para se conseguir uma correta indução da ovulação são necessários os exames, como a palpação retal e ultrassonografia, com estes exames vai observar o tamanho que se encontra os folículos assim poderá induzir a ovulação no momento necessário (PALMER, 1993). Segundo PALMER, (1993) o uso de agentes indutores da ovulação em folículo mínimo de 35 mm tendo bons resultados.

Na espécie equina a sincronização do estro e da ovulação possui uma maior complexidade, quando comparada a outras fêmeas de animais domésticos há uma longa fase folicular que as éguas possuem dificuldades de se adequar o controle do crescimento (DOUGLAS, 1986). Desde o início do uso da TE na reprodução equina se tem uma grande preocupação com a sincronia entre doadora e receptora. Assim estes estudos mostraram que as receptoras que haviam ovulado dois dias antes (+2) a três dias depois (- 3) em relação à doadora, revelaram apenas uma queda na taxa de prenhes, quando do uso de receptoras +2, sem diferenças entre os demais dias (MCKINNON E SQUIRES, 1988). OGURI e TSUTSUMI (1980) reportaram 63% de prenhes após transferência não cirúrgica para receptoras que ovularam 48 horas depois da doadora contra 0% em receptoras que ovularam 48 horas antes da doadora.

Sendo assim, preconizou-se que a transferência dos embriões deveria ser entre +1 a - 2, ou seja, que a receptora ovule um dia antes até dois dias depois da doadora. Estudos mostram que o sincronismo entre as éguas doadoras e receptoras de embriões é fundamental para o sucesso da transferência de embriões, constatando-se que os melhores índices de gestações para as éguas receptoras são os sincronismos entre -3 e +1 em relação às éguas doadoras (sincronismo “0” e o

dia da ovulação). (MCKINNON *et. al.*, 1988; SQUIRES E SEIDEL, 1995; PERES *et. al.*, 2002).

Pesquisas recentes mostram que pode ser mais flexível esta sincronia entre doadora e receptora, sendo assim pode-se realizar a colheita do embrião em dias diferentes. (Segundo JACOB *et. al.*, 2002), receptoras ovuladas um dia antes, até cinco dias após a doadora podem ser utilizadas sem afetar as taxas de prenhes. O mais relevante que a sincronia entre doadora e receptora, é o número de dias pós-ovulação que a receptora apresenta no momento da transferência, conforme salientado por (CARNEVALE *et. al.*, 2000).

Hormônios como prostaglandina e progesterona vem sendo usados para que haja sincronização da ovulação em éguas. O tratamento, para que haja a sincronização receptora deve ser iniciado, um dia após ao início do tratamento da doadora e a segunda receptora dois dias após, visando garantir que a receptora não ovule antes que a doadora. (BLANCHARD; VARNER; SCHUMACHER, 1998).

Sabe-se que as éguas após o uso de hormônios para a sincronização deverão ser avaliadas diariamente, pois após o uso PGF2 α elas tendem a ovular de 9 a 13 dias (SQUIRES, 1993). A gonadotrofina coriônica humana (hCG) é administrada após a detecção de um folículo de 35 mm, aproximadamente 75% das éguas ovulam no dia 10 a 12 após término do tratamento, ou seja, esse folículo ovula de 24 a 48 horas após a aplicação do hCG, acelerando a maturação final do folículo e a ovulação (SQUIRES, 1993).

Sempre se deve ter mais de um animal neste programa de sincronização, sendo assim escolhendo melhor, mas pode ocorrer o caso de uma ovulação dupla, assim tendo dois embriões de uma doadora (BLANCHARD; VARNER; SCHUMACHER, 1998).

Sabe-se que o tratamento com a progesterona (P4) deve ser mantido por pelo durante 5 dias, até que o CL da receptora esteja funcional (SQUIRES, 1993). Hoje é muito usado um tratamento injetável (P4 LA) que seja de longa duração, assim tem sido utilizada a cada sete dias em éguas ciclando após a administração da PGF2 α e efetivamente mantém os níveis de P4 durante a fase luteal das éguas (PESSOA, 2004). Assim o uso de P4 LA tende a ser mais vantajoso, pois há varias formas de progesterona curta ação requerem bastante trabalho e estressa os animais devido as injeções diárias. (PESSOA, 2004).

Sabe-se que quando as éguas estão ciclando, a indução da ovulação é para melhorar, fazendo com que a ovulação ocorra o mais próximo da IA ou monta natural (PALMER, 1993). Em relação à utilização do sêmen, vai depender, pois ele pode ser congelado, fresco ou por monta natural, pode-se aceitar um intervalo de 0 a 48 horas para a ovulação já com sêmen, sendo que com o uso do sêmen congelado este tempo tende a cair pela metade em torno de 24 horas, para que ocorra um bom resultado (PALMER, 1993).

O uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) foi primeiramente descrito por (Day 1939) como um indutor da ovulação em éguas. Desde do uso do hCG como um agente ovulatório tem sido muito estudado e frequentemente usado na prática (VOSS, 1993).

O hCG é usado em combinação com agentes luteolíticos ou produtos que venham a estimular a atividade folicular, como o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e seus análogos, sendo usado de maneira correta se torna excelente, não sendo necessário o uso de outro hormônio associado. (VOSS, 1993).

Segundo DAVIDSON (1947) a ovulação pode ocorrer entre 24 e 48 horas após a injeção de hCG. A principal desvantagem do uso do hCG é o elevado custo, e que devido ele ser uma proteína, sua administração exógena acaba produzindo anticorpos contra ele mesmo (VOSS, 1993).

Assim os pesquisadores descobriram que os animais tinham uma boa resposta ao tratamento hCG, mas logo depois de duas aplicações as éguas submetidas a este tratamento já começavam a desenvolver anticorpos (PALMER, 1993; VOSS, 1993).

O acetato de deslorelina é um agonista sintético do GnRH, tende a induzir a ovulação em 42 horas esse hormônio apresenta vantagem de ser imunologicamente inerte levando à não produção de anticorpos pela receptora possibilitando a administração repetitiva (CONN E CROWLEY, 1991; MUMFORD *et. al.*, 1995; BRADECAMP, 2007).

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

Para que fosse cada vez mais bem sucedida a TE, foi necessário a utilização de métodos que possam dar certeza que a doadora e receptora estariam aptas para IA ou monta natural e para a TE. Assim, na década de 80, teve o uso da

ultrassonografia como aliada para se fazer todo o controle do cio e ovulação e confirmação das prenhez (PALMER E DRIANCOURT, 1980; MAPLETOFT *et. al.*, 1994; FORTUNE, 1994).

A avaliação ultrassonografia ajuda avaliar a condição uterina de doadoras e receptoras. A ecotextura uterina, observada por meio de ultrassonografia, está diretamente ligada à fase do ciclo estral em consequência das concentrações hormonais (GINTHER E PIERSON, 1984).

Na fase estrogênica, são observadas dobras endometriais decorrentes do edema uterino presente no endométrio, sendo este se apresentando hipocogênico. Na fase progesterônica (diestro), o útero apresenta-se mais denso ao exame ultrassonográfico, em detrimento ao menor edema e maior justaposição dos componentes da parede uterina (GRIFFIN E GINTHER, 1991; PYCOCK *et. al.*, 1995).

DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO

Na década de 80 começaram os primeiros trabalhos com diagnóstico de gestação com ultrassonografia em equinos, sendo possível observar a vesícula embrionária (PALMER E DRIANCOURT, 1980).

Em algumas éguas pode-se visualizar a partir de 9 a 13 dias após a ovulação, sendo vista uma pequena vesícula esférica com 4 a 5mm de diâmetro e espaço vesicular anecóico. A partir de 14 dias, uma vesícula embrionária será visualizada com diâmetro médio de 15 mm. Esta vesícula apresenta um crescimento diário de 3 a 4mm de 14 a 17 dias (GINTHER, 1986), entre 17 e 25 dias ela sofre uma redução no seu crescimento e logo após estes retornando o aumento rapidamente (KAHN, 1994).

O embrião tem seu primeiro formato esférico até o dia 15, a partir de 17 dias passa a ter o formato ovoide e toma o formato de pêra entre os dias 18 e 21 e depois terá um formato irregular (KAHN, 1994).

Sendo assim, o diagnóstico de gestação será realizado por técnica de ultrassonografia aos 15 dias a partir da data de ovulação da doadora. Caso a receptora estiver gestante o exame será repetido aos 30, 45 e 60 dias a fim de verificar a taxa de perda embrionária precoce.

TÉCNICA DE COLHEITA E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS

Para a colheita de embriões podem ser utilizados dois métodos: o método cirúrgico e o não cirúrgico, sendo esse último o mais utilizado como rotina.

O procedimento não cirúrgico de coleta do embrião do lúmen uterino é relativamente simples: o cateter ou sonda é introduzido pela cérvix (via transvaginal) e o balão alojado no corpo uterino é inflado com 50 ml de ar, tracionando-se para ser mantido em íntimo contato com a porção uterina da cérvix. (FLEURY *et. al.*, 2001). Através deste cateter ou sonda, são infundidos de 1 a 3 litros de meio tamponado no útero da égua, sendo o mesmo massageado para garantir a distribuição do meio por todo o órgão. Posteriormente, efetua-se a sua por gravidade diretamente em copo coletor com um filtro, sendo que este procedimento deve ser repetido de uma a três vezes ou até a visualização do embrião.

O embrião deve ser identificado e qualificado morfológicamente mediante avaliação em estereomicroscópio. (CARNEIRO, 2005). Em seguida uma seringa de 10 ml, deve ser acoplada a uma pipeta de inseminação, e todo o material utilizado deve estar estéril. Aproximadamente 4 ml de ar é sugado para o interior da seringa e a extremidade da pipeta é posicionada junto à placa de Petry contendo o embrião (BLANCHARD; VARNER; SCHUMACHER, 1998). A pipeta é preenchida, respeitando-se a seguinte sequência: coluna de meio Holding + coluna de ar + coluna de meio contendo o embrião + coluna de ar + coluna de meio (FLEURY *et. al.*, 2001). Isso previne que o embrião se movimente dentro da pipeta reduzindo as chances de perda do mesmo (BLANCHARD; VARNER; SCHUMACHER, 1998).

No ato da transferência transcervical, a receptora deverá ser preparada com uma higiene externa da vulva, sendo lavada com água e sabão da mesma maneira que a doadora, antes da coleta. O veterinário deve utilizar luva de palpação estéril sempre visando à higiene para que não haja contaminação do útero. Na sequência, o veterinário utiliza uma pequena quantidade de lubrificante estéril e atravessa a pipeta contendo o embrião manualmente pela vagina. Com o dedo indicador da mão, gentilmente dilata-se o lúmen cervical, introduzindo a pipeta pela cérvix até chegar ao útero, retira-se o dedo e se segura firmemente a cérvix, até que todo o conteúdo da seringa seja depositado no útero da receptora. Na sequência, retira-se vagarosamente a pipeta (BLANCHARD; VARNER; SCHUMACHER, 1998).

A coleta deve ser realizada de 7 e 9 dias após a ovulação, utilizando catéteres ou sondas específicas com balão com capacidade para 75 ml de ar, e comprimento variando entre 80 e 150 cm, podendo ser alongado com mangueira plástica



siliconada (FLEURY *et. al.*, 2001). Fleury et al. (2001) obtiveram taxa de recuperação embrionária, de visualização do embrião no filtro e taxa de prenhes de 58,0; 72,1 e 74,7 % para embriões de 8 dias e de 54,5; 94,7 e 76,5 % para embriões de 9 dias, respectivamente.



AVALIAÇÃO EMBRIONÁRIA

Segundo CARVALHO *et. al.*, (2001) os embriões devem ser analisados quanto a sua forma, cor e textura, podendo ser classificados da seguinte forma:

Grau 1 – O embrião apresenta-se degenerado, (blastocele colapsada, numerosos blastômeros deslocados e de forma bastante irregular);

Grau 2 – Apresenta-se regular (várias anormalidades, não muito severas, com vários blastômeros deslocados e células degeneradas);

Grau 3 – Encontra-se bom (com menor anormalidade, pouco irregular com alguns blastômeros deslocados e pouca separação do trofoblasto);

Grau 4 – Excelente (esférico, uniforme no tamanho, na cor e na textura);

FATORES QUE INFLUENCIAM NA TE EQUINA

Dentre os fatores que influenciam na TE, a qualidade do sêmen assume grande importância, e assim pode haver problemas com o transporte do sêmen caso o garanhão não esteja no haras, na maioria das vezes este transporte é realizado de forma incorreta ou até mesmo embalado por pessoas que não são qualificadas para desempenhar este serviço, assim irá prejudicar a qualidade.

Sabe-se que a fertilidade de sêmen congelado é baixa, e será necessário um número de doses para atingir uma prenhes. Para que haja a inseminação congelado/descongelado será necessária uma dose de sêmen que tenha cerca de um milhão de espermatozoides viáveis que serão depositados no corpo uterino. Sabe-se que um número bem pequeno vão chegar ao oócito para a fertilização passando por uma seleção durante o transporte do espermatozoide no útero (SANCHEZ, *et. al.*, 2004).

Foram relatados que após a IA com sêmen congelado pode acontecer uma reação inflamatória aguda no útero de éguas inseminadas (WATSON, 2000), sendo assim, métodos de deposição deste sêmen mais próximo do local da ovulação tende a diminuir esta reação inflamatória.

Experimentos realizados mostraram que uma baixa dose de inseminação histeroscópica, onde o sêmen é depositado na junção útero-tubárica, é um importante reservatório espermático em éguas (SCOTT, 2000). Esta é uma técnica eficaz para espécie (SANCHEZ *et. al.*, 2004), comparou as taxas de recuperação embrionária de éguas inseminadas com sêmen resfriado e congelado utilizando o método de inseminação histeroscópica, obteve 42 % e 46 % de recuperação embrionária, ao observar taxas de prenhes de 71 % para sêmen resfriado e 63 % para sêmen congelado, não encontrando diferença significativa com estes resultados obtidos por (SQUIRES *et. al.*, 2000) ao utilizar IA histeroscópica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim a TE vem como um grande avanço na reprodução sendo eficaz para o rebanho equino no país, sendo comercialmente mais viável para os criadores pois com estes embriões coletados e confirmados pode se agregar valor e facilitando assim o seu comercio para outras regiões. Assim pode se reduzir o numero de doadoras e ganhões sendo que o numero de receptoras será maior para suprir tal necessidade assim pode se dizer que ira diminuir custos com nutrição, manejo e mão de obra sendo necessário uma área de pastagem adequada para suprir estas receptoras. Hoje os grandes criatórios espalhados pela America trabalham com esta técnica que visa facilidade e agregação de valor a seus animais que muitas das vezes são grandes campeões.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, L.S. O ciclo estral da égua e o seu controle endócrino. In: **Fisiologia e manejo da reprodução equina**. 2 ed, Recife, 1986, p. 57 – 63.

ARRUDA R.P., VISINTIN J.A., FLEURY J.J., GARCIA A.R., MADUREIRA E.H., CELEGHINI E.C.C. & NEVES NETO J.R. 2001. Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultrassom e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embrião equinos? **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 38:233-239.

BALL BA. An introduction to the use and application of cryopreserved equine semen. In: Equine Assisted Reproductive Technology Workshop, 1998, Davis. Proceedings...Davis: [s.n.], 1998a. p.25-41.

HINRICHS K. & CHOI Y.H. 2005. Assisted reproductive techniques in the horse. **Clin. Tech. Equine Pract.** 4:210-218.

LOPES, E.P. Desmistificando a transferência de embriões. **Top 2000 Mangalarga Marchador**. v.1, n.1, p.6, 2002.



LOPES, E.P., M.S., Universidade Federal de Viçosa, Dezembro de 2004. **Parâmetros reprodutivo de éguas Mangalarga Machador em projeto comercial de transferência de embriões**

MERKT, H.; KLUG, E.; JOCHLE, W. Reproduction management in the german thoroughbred breeding industry. **Journal of Equine Veterinary Science** , v.20, n. 12, 2000.

SQUIRES E.L., CARNEVALE E.M., MCCUE P.M. & BRUEMMER J.E. 2003. Embryo technologies in the horse. **Theriogenology** 59:151-170.

LAMINITE EM EQUINOS

Acadêmicos: Allan Lessy Martins Cunha

Wesley Monteiro Rodrigues Torres

Orientador: Bruno Cândido de Andrade



RESUMO

A laminite é uma afecção de grande importância na clínica de equinos, pois envolve o comprometimento anatômico e funcional do casco, podendo debilitar excessivamente os animais acometidos implicando, em alguns casos, na indicação de eutanásia. A afecção envolve a ausência de sustentação adequada da falange distal dentro do estojo córneo do casco, que pode evoluir para a rotação ou afundamento da falange distal no interior do casco. A fisiopatologia da laminite ainda não é totalmente esclarecida, e acredita-se que alterações como inflamação, hipoperfusão, isquemia e necrose das lâminas do casco, estejam envolvidas no processo patológico. A doença pode ser classificada, entre outras formas, como aguda e crônica. O diagnóstico é obtido com base nos sinais clínicos e nos exames radiográficos. Entre os sinais clínicos da laminite aguda estão o aumento do pulso das artérias digitais à palpação, a claudicação e a relutância em se mover. A laminite crônica cursa com claudicação e conformação anormal dos cascos, além de incluir outros sinais clínicos, tais como dor intensa e deformação da parede do casco. O tratamento de ambas as formas de laminite tem por objetivo minimizar as lesões iniciais, controlar e modular as forças biomecânicas adversas da carga vertical pivotante, preservando a vascularização e a camada germinativa, controlar a dor e estimular o crescimento adequado de nova parede do casco. O trabalho aborda dois casos clínicos de laminite crônica que foram atendidos no setor de clínica médica de grandes animais do Hospital Escola da Faculdade Univértix.

PALAVRAS-CHAVE: Equinos; Laminite crônica; Rotação de Falange.

INTRODUÇÃO

A laminite é a inflamação da junção laminar dermo-epidérmica do casco responsável pela união entre a muralha e falange distal (STASHAK, 2006). Mendes Neto e colaboradores (2012), afirmam que a laminite é uma das causas mais importantes da claudicação em equinos e quando intensa, resulta em rotação e deslocamento ventral da falange distal. A etiologia da laminite é multifatorial, e sua patofisiologia ainda não é totalmente compreendida, podendo ser classificada dentre outras formas em função de suas fases: prodrômica, aguda e crônica. O diagnóstico baseia-se nos sinais clínicos e exames radiográficos (STASHAK, 2006).

São muitos os fatores desencadeantes da laminite, como as disfunções gastrointestinais causadas tanto pela ingestão de quantidades excessivas de grãos quanto pelas alterações inflamatórias e morfofuncionais decorrentes de colite, duodeno-jejunitis proximal, obstruções intestinais simples ou estrangulativas. Alterações biomecânicas provocadas por traumatismos ou devidas a apoio unilateral dos membros também são relacionadas. Existem ainda numerosos fatores causais

que incluem a retenção de placenta, abortos acompanhados de metrite, uso de corticoides, hipotireoidismo e repetição deaios em éguas, assim como hipoperfusão periférica, endotoxemia e o aumento sistêmico e no tecido local das concentrações de citocinas pró inflamatórias, capazes de aumentar a atividade das metaloproteinases da matriz extracelular (MARTINS FILHO, 2007).

Este trabalho tem por objetivo relatar 2 (dois) casos de laminite crônica atendidos e tratados no Hospital Veterinário da Faculdade Univértix, juntamente com seu respectivo tratamento.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Segundo Machado (2008) o casco envolve toda extremidade digital dos equinos, tem o formato de estojo córneo, apresentando-se uma parede, que é a parte visível quando o animal encontra-se em estação, sendo esta dividida em partes dorsal, lateral e medial, uma sola sendo a parte que toca o solo além de um toro.

A parede do casco apresenta duas margens, uma proximal chamada margem coronária e outra distal, denominada margem solear. A margem coronária é contínua com a epiderme comum, e seu contorno é denominado coroa do casco. A face interna da parede do casco apresenta um tecido córneo esbranquiçado e relativamente macio, organizado na forma de centenas de laminas epidérmicas, paralelas entre si. Essa parte laminar constitui a camada interna do casco e, pela sua coloração esbranquiçada, ao projetar-se na sola origina uma linha clara chamada de zona Alba, que se dispõe entre a margem solear e a sola. (MACHADO, 2008).

A sola do casco é a parte voltada diretamente para o solo, embora não toque ao solo quando o animal se encontra em estação. Tal fato se deve à discreta concavidade que possui, ficando o apoio ao solo pela margem solear e ranilha. Existe também um rico plexo vascular que é alimentado pelas artérias que delas surgem veias digitais que ocupam grande parte do casco. A derme também é atingida por fibras nervosas que lhes garante grande sensibilidade (MACHADO, 2008).

A laminite é definida como inflamação das lâminas do casco, causadora de degeneração e necrose das lâminas dérmicas e epidérmicas do casco. Apesar de



correta, é uma definição simplificada da sequência complicada de eventos que resultam em diferentes graus de comprometimento da interdigitação entre as lâminas dérmicas e epidérmicas, culminando na rotação ou no deslocamento distal da terceira falange, quando sistêmica acomete em maior gravidade os membros torácicos, dado o efeito do peso do animal sobre os mesmos (STASHAK, 2006).

A laminite pode resultar de uma variedade de eventos patológicos que envolvem outros aparelhos e sistemas orgânicos, principalmente o aparelho digestório (BELKNAP e PARKS, 2011). Entre os fatores predisponentes, pode-se citar o excesso de ingestão de carboidratos, a síndrome cólica, as diarreias e as infecções graves, como peritonite, pleuropneumonia e endometrite. Também já foram citadas como causas predisponentes a ingestão de alguns tipos de gramíneas, exercício intenso, trabalho em piso duro, transporte por tempo prolongado e terapia prolongada com corticosteroides (MIKAIL e PEDRO, 2006).

As hipóteses existentes para explicar as alterações na dinâmica vascular dos cascos incluem aquelas que sugerem a diminuição ou o aumento do fluxo sanguíneo, com diminuição da perfusão digital apesar de o fluxo total de sangue aumentar via abertura de anastomoses (THOMASSIAN *et al.* 2000).

Segundo Pollitt (1999) existe a evidência de que, durante a fase de desenvolvimento da laminite, ocorre vasodilatação no casco e a laminite não acontecerá se no casco existir vasoconstrição. Outra hipótese para a isquemia digital são os danos e morte das células epidérmicas, decorrentes da destruição enzimática da membrana basal. Conforme a membrana basal e a junção dermo-epidérmica desaparecem, os capilares também são destruídos.

As hipóteses existentes para explicar as alterações na dinâmica vascular dos cascos incluem aquelas que sugerem a diminuição ou o aumento do fluxo sanguíneo, com diminuição da perfusão digital apesar do fluxo total de sangue aumentar via abertura de anastomoses (THOMASSIAN *et al.* 2000).

A fase de desenvolvimento da laminite ocorre após 48 horas antes do aparecimento da dor nos cascos. Nessa fase, os fatores desencadeantes da laminite atuam no tecido laminar, levando à separação e à desorganização de sua anatomia. Após o aparecimento da dor, a laminite pode ser dividida em aguda e crônica, sendo que a laminite aguda ainda pode ser subdividida em subaguda, aguda e refratária (THOMASSIAN *et al.*, 2000).

A instalação da necrose isquêmica devido a morte das células epidérmicas, produz a perda da inter-relação do tecido podofiloso, predispondo ao deslocamento e rotação da falange distal. O cório coronário palmar, lâmina dérmica palmar e o cório palmar da sola, não são comprometidos pelos fenômenos de isquemia, por apresentarem intensa rede de vasos colaterais (THOMASSIAN *et al.*, 2000).

A dor gerada no processo é um estímulo que libera catecolaminas que irão agir no interior dos vasos, causando a vasoconstrição e aumentando a isquemia. Conforme a laminite passa para a fase crônica, a necrose se estende às estruturas dérmicas, causando uma perda do apoio suspensório entre a junção laminar dermo-epidérmica (STASHAK, 1994).

As manifestações clínicas num cavalo com laminite são claudicação intensa e bilateral principalmente nos membros torácicos na maioria dos casos ou em alguns casos quadrilateral. O cavalo hesita em mover-se e tende a alternar o apoio do seu peso de uma mão para a outra. Quando forçado a deslocar-se, o cavalo tende a inclinar o peso do seu corpo sobre os membros pélvicos, tentando apoiar-se apenas na porção dos talões dos membros torácicos. O exame físico revela ainda um pulso digital forte e aumento de temperatura na parede do casco e banda coronária. Quando o casco é testado com uma pinça de casco, o cavalo apresenta dor na região das pinças e à frente do vértice das ranilhas (SMITH, 1994).

Na laminite aguda, acrescentam-se os sinais de desvio do centro de gravidade, relutância à locomoção, ansiedade, e temperatura aumentada da muralha e da banda coronária (MIKAIL e PEDRO, 2006).

A laminite aguda pode afetar ambos os membros torácicos ou todos os quatro membros. Se todos os quatro membros estiverem afetados, o cavalo tende a permanecer deitado por longos períodos, mostra grande relutância em se mover (ADAMS, 1994).

A laminite torna-se crônica após 48 horas de dor contínua, ou quando ocorre rotação da falange distal, sendo a continuação da laminite aguda, especificamente da refratária, e inicia-se no primeiro sinal de instabilidade da falange distal dentro do estojo córneo (SILVA *et al.*, 2013).

A fase crônica prematura inicia-se ao primeiro sinal de instabilidade da falange distal e pode perdurar por dias ou meses. A fase crônica ativa caracteriza-se pela rotação e pelo constante movimento e instabilidade da falange distal, podendo esta perfurar a sola do casco. Casos crônicos estáveis são aqueles em que a

falange distal se estabilizou, e o casco e a sola voltaram a crescer, ocorrendo melhora clínica evidente (MIKAIL e PEDRO, 2006).



Se a rotação da falange distal ocorre, pode variar em intensidade, que deve ser aferida em graus. A rotação grave é muitas vezes acompanhada por separação da faixa coronária na região do processo extensor, com transudato por esta falha. No exame pode ser notada uma separação semicircular da sola imediatamente dorsal ao ápice da ranilha, indicando que a ponta da falange distal está começando a penetrar na sola. Esse é um quadro bastante grave, sendo que os cavalos raramente se recuperam ou podem ser salvos (ADAMS, 1994).

Nas rotações leves ou moderadas e crônicas da falange distal, anéis divergentes serão visíveis na parede do casco. O espaço entre os anéis na região dos talões será tipicamente maior que na região da pinça. Isso representa um padrão de crescimento diferenciado, no qual os talões estão crescendo muito mais rapidamente que a pinça, pois há diminuição do suprimento sanguíneo e da síntese de queratina nessa região (ADAMS, 1994).

Em todos os cascos devem ser realizadas radiografias em série, de 48 a 72 horas após o início agudo da laminite, para monitorar o progresso da rotação da falange distal. O grau de rotação é estimado traçando-se linhas paralelas à face dorsal da parede do casco e à face dorsal da falange distal em uma folha de acetato. O ângulo de intersecção da parede do casco e da falange distal com a superfície do solo é identificado e os dois valores são subtraídos para se obter o grau de rotação. Esta informação é valiosa por vários motivos (ADAMS, 1994).

Radiografias em série com intervalos semanais prolongando-se por períodos maiores de tempo irão permitir que o veterinário avalie o tratamento e a gravidade do processo patológico inicial que ocorreu. Um grau crescente de rotação da falange distal é um sintoma grave (ADAMS, 1994).

O tratamento baseia-se em eliminar ou minimizar os fatores predisponentes, reduzir o ciclo de dor/hipertensão, reduzir ou prevenir danos laminares permanentes, melhorar a hemodinâmica capilar laminar e prevenir a rotação da falange distal. Partindo do princípio de que a maioria das doenças que predispoem os equinos a apresentarem laminite está associada a endotoxemia, combater efeitos da endotoxemia por meio de fluidoterapia, antibióticoterapia, utilização de Flunixin Meglumine ou Cetoprofeno e plasma hiperimune é essencial (MIKAIL e PEDRO, 2006).

Os antiinflamatórios não-esteróides são necessários para reduzir a dor e a inflamação nos cascos. A Fenilbutazona é o anti-inflamatório não-esteróide mais comumente utilizado. Deve inicialmente ser utilizado na dose de 4,4 mg/kg via oral ou via intravenosa a cada 12 horas, durante três a quatro dias, diminuindo-se gradualmente para 2,2 mg/kg nos dias subsequentes ou até quando necessário. A fenilbutazona reduz potencialmente a inflamação, o edema e a dor no dígito, sendo aparentemente mais eficaz em reduzir a dor do que o Flunixin Meglumine e o Cetoprofeno. Entretanto o Flunixin Meglumine pode ser utilizado na dose de 1,0 mg/kg a cada 12 horas ou 0,25 mg/kg a cada 8 horas, sozinho ou em associação à fenilbutazona na dose menor, nos cascos em que há endotoxemia ou sepsis (MIKAIL e PEDRO, 2006).

O Cetoprofeno tem ação similar ao Flunixin Meglumine e deve ser utilizado na dose de 3,60 mg/kg. Estudos mostraram que o cetoprofeno é mais efetivo em diminuir a inflamação do que a Fenilbutazona e o Flunixin. Também demonstrou-se que o cetoprofeno é mais potente do que a Fenilbutazona em dores crônicas do casco (MIKAIL e PEDRO, 2006).

O Dimetilsulfóxido (DMSO) é um agente antiinflamatório potente e age contra radicais livres, prevenindo a lesão de reperfusão após isquemia. Apesar de não haver comprovação científica de sua eficácia para o tratamento de laminite, melhoras clínicas são observadas quando se utiliza a dose de 0.25 a 1,0g SID durante dois a três dias devendo ser diluído em concentração inferior a 10% para evitar hemólise (PARKS, 2003).

A terapia vasodilatadora visa restabelecer a circulação e melhorar a perfusão do casco. Pode-se utilizar Acepromazina na dose de 0,03 a 0,06 mg/kg por via intramuscular a cada seis ou oito horas por três a cinco dias ou semanas. O Isoxsuprine na dose de 1,2 mg/kg a cada 12 horas via oral também é recomendado, apesar de controvérsias quanto a sua eficácia. A pentoxifilina na dose de 4,4 mg/kg a cada oito horas tem sido utilizada para melhorar a circulação e a distribuição de oxigênio (MIKAIL e PEDRO, 2006).

O tratamento com anticoagulantes envolve a utilização da heparina na dose de 40 a 80 UI/Kg intravenoso, ou via subcutânea cada 8 ou 12 horas, e o ácido acetilsalicílico na dose de 10 a 20 mg/Kg a cada 48 horas via oral (RADOSTITS et al., 2000).



A retirada da ferradura é recomendada quando houver sinais de debilidade, deve-se aparar os cascos com pinças longas, retirando o apoio destas e fornecer suporte ao casco por meio da utilização de piso de areia e cama seca e macia. A colocação de ferraduras ortopédicas na fase crônica é recomendada. O uso de ferradura de madeira constituiu um método atraumático de ferrageamento, que permite a redução das forças mecânicas do casco e a estabilização da terceira falange, além de reduzir dor e o break over. A utilização de ferraduras de madeira aparentemente facilita o fluxo sanguíneo para a sola, o que pode ser evidenciado pelo crescimento desta região observado em animais submetidos a esse método de ferrageamento (STEWART, 2003).

A tenotomia do tendão flexor digital profundo deve ser realizada para aliviar a dor em equinos com laminite crônica que não responderam a outras formas de terapia, pois secção do tendão resulta em uma maior liberação das forças de tensão sobre a falange distal (HUNT, 2002).

Cavalos com rotação $\leq 5,5$ graus possuem um prognóstico favorável quanto ao retorno à carreira atlética. Já animais com rotação $\geq 11,5$ graus possuem prognóstico desfavorável (SILVA 2013).

O prognóstico é sempre reservado em um caso de laminite se os sintomas persistirem por um período maior que 10 dias e houver presença de infecção. A infecção pode penetrar na sola e na pododerme resultando na separação da linha branca causada pela desunião da interdigitação laminar e posteriormente levando ao casco se soltar (ADAMS, 1994).

RELATOS DOS CASOS

Caso I

No dia 11 de abril de 2014 foi atendida no Hospital Escola Univértix, uma égua da raça Mangalarga Marchador de 13 anos de idade com peso de 363 kg. Na anamnese o proprietário relatou que o animal apresentava claudicação intensa dos membros torácicos há 15 dias. As frequências cardíaca e respiratória estavam dentro dos padrões de normalidade, as mucosas estavam hipocoradas.

No exame clínico específico observou-se que o animal relutou-se a se locomover quando forçado. Nos membros torácicos o pulso da artéria digital estava aumentado. Como exame complementar foi realizado radiografias dos membros

torácicos e diagnosticado rotação da falange distal de 9,34 graus no membro torácico direito e 8,59 graus no membro torácico esquerdo.

O tratamento medicamentoso foi realizado com Fenilbutazona na dose de 4mg/kg/IV/SID durante 5 dias, Ácido Acetilsalicílico 400mg/VO/SID durante 10 dias, Acepromazina na dose de 0.03 mg/kg/IM/TID durante 5 dias, Penicilina na dose de 22.000UI/kg/IM/BID durante 7 dias e Flunixin Meglumina na dose de 0,25 mg/kg/IV/TID durante 3 dias.

O tratamento conservativo foi realizado através do casqueamento. Foi feito a retirada das pinças e diminuição da parede dorsal do casco. Foi realizado o uso de tamanco ortopédico de madeira, parafusos e silicone para fixação do mesmo e acolchoamento da baia com maravalha. Após o emprego do tamanco ortopédico foi realizado um novo exame radiográfico e constatado que houve diminuição da rotação da falange distal de 6,23 graus no membro torácico direito e 6,08 graus no membro torácico esquerdo.

Após o início do tratamento realizado no hospital veterinário, o animal retornou para sua propriedade de origem onde o proprietário deu continuidade ao tratamento medicamentoso. O animal recebeu alta e foi estabelecido um retorno de 40 dias após para avaliação do tratamento.

Caso II

No dia 06 de junho de 2014 deu entrada no Hospital Escola Univértix, um garanhão da raça Quarto de Milha de 6 anos idade, pesando 327kg. Na anamnese o proprietário relatou que o animal apresenta laminite crônica há mais de um ano, desde então sendo manejado por diversos veterinários, com diversas prescrições diferentes. O animal apresentava claudicação intensa e decúbito lateral por longos períodos. Ao exame clínico o animal apresentou aumento do pulso da artéria digital, infecção nas linhas branca do casco, presença de abscessos solares e sola dupla. Apresentava também azoospermia e através do hemograma constatou-se que o animal apresentava anemia.

Foi realizado radiografia dos membros torácicos e foi constatada rotação de 11,5 graus da falange distal do membro torácico direito e 12,0 graus da falange distal do membro torácico esquerdo.

O tratamento medicamentoso foi firocoxib 227mg, sendo 1 comprimido BID via oral, uso contínuo; Omeprazol, via oral, uso contínuo; Isoxsuprime na dose de

0,6mg/kg/SID uso contínuo; Kerabol 15ml SID via oral, uso contínuo; Hemolitan 20 ml SID via oral, por 30 dias; Óleo de canola 200 ml BID, via oral por 30 dias misturado na ração. Como uso externo no casco foi feita limpeza dos mesmos, casqueamento corretivo, pedilúvio com sulfato de magnésio duas vezes por dia, durante 20 minutos. Após a realização do pedilúvio, secou-se a sola e aplicou lodo 5% na sola dos cascos e nas lesões, depois se realizou bandagem com gaze e borracha, fixando com fita adesiva. O pedilúvio foi realizado por 20 dias. Após foi realizado o casqueamento corretivo e ferrageamento com tamanco ortopédico tendo auxílio de silicone. A partir desta data o animal foi solto em piquete pelas manhãs diariamente. No dia 14 de julho foi adicionado levedo de cerveja em sua dieta, administrando 50g por dia durante 30 dias. Animal foi mantido em baia acolchoada com maravalha.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dois relatos de laminite descritos foram diagnosticados ainda com idades variadas e os animais apresentavam atividades atléticas diferentes. O surgimento da afecção do garanhão foi devido a uma colite no colón dorsal direito, já na égua foi pela ingestão excessiva de alimentos ricos em carboidratos.

Na égua mangalarga marchador, após o casqueamento corretivo foi feito novo exame radiográfico dos membros torácicos e observado que houve uma melhora clínica que minimizou a rotação de falange (9,34 graus no membro torácico direito e 8,59 graus no membro torácico esquerdo diminuiu para 6,23 graus no membro torácico direito e 6,08 graus no membro torácico esquerdo). Após 40 dias de início do tratamento o animal retornou ao hospital onde foi realizado um novo exame clínico e radiográfico e foi constatado ausência de rotação.

Durante a confecção do tamanco ortopédico foi feito de forma abaulada para facilitar a passada e diminuir o break over. Logo após a colocação da ferradura ortopédica de madeira foi observado que o animal deixou de claudicar, pois além de retirar a tensão do tendão flexor digital profundo sobre a falange distal, também amenizou a dor pelo melhor suporte, o que propicia crescimento adequado do casco. Logo após o animal foi levado para baia que estava acolchoada com maravalha. A maravalha nos dois casos teve a finalidade de amenizar o impacto do casco com o solo. A Fenilbutazona teve como finalidade controlar a inflamação e

fornecer analgesia para o animal. Agesperim (ácido acetil salicílico) este princípio ativo inibi a agregação de plaquetaria, além de ser anti-pirético, analgésico e anti-inflamatório.



Acepromazina na dose que foi utilizada resulta em vasodilatação periférica para uma melhor perfusão sanguínea assim resultando na melhor chegada de nutrientes ao casco. O Flunixin Meglumina (AINEs) possui efeito analgésico e anti-inflamatório, contudo na dosagem utilizada teve efeito anti-toxêmico.

No relato de caso II o animal já havia passado por diversos tratamentos médicos veterinários em um período de um ano de convalescença. Quando de sua admissão ao hospital escola verificou-se que o mesmo permanecia maior parte de seu tempo em decúbito lateral.

Após casqueamento específico através da retirada das pinças e diminuição da parede dorsal do casco, para que o casco se adaptasse a nova posição da falange distal, foi realizada a colocação de ferradura ortopédica com objetivo de restabelecer os ângulos normais da falange distal em relação ao estojo córneo e retirar tensão do tendão flexor digital profundo para não aumentar ainda mais o grau de rotação da falange distal.

A maravalha foi colocada em sua baia com finalidade de diminuir o impacto do casco quando em contato com o solo. Durante a confecção do tamanco ortopédico foi feito de forma abaulada para facilitar a passada e diminuir o break over.

O tratamento medicamentoso foi realizado para controlar e amenizar a dor do animal. O Previcox (firocoxib) teve finalidade de amenizar a dor do animal e diminuir a inflamação. Gastrozol (omeprazol) teve finalidade de inibir a bomba de prótons e diminuir secreção de ácido gástrico prevenindo futuras ulcerações pela administração de anti-inflamatórios. O Isoxsuprime tem função vasodilatadora para maior chegada de nutrientes no casco do animal. O Kerabol foi indicado, pois, é um complexo sulfurado composto de zinco biotina e metionina utilizado para crescimento adequado dos cascos. O Hemolitan é um suplemento que fornece vitaminas e minerais e participa diretamente ou indiretamente da formação e manutenção da integridade das células de rápida multiplicação. O óleo de canola tem propriedades anti-inflamatórias e é rico em ômega 3 tendo função de proteção da mucosa gástrica.

O animal ainda se encontra no Hospital Veterinário, mas já houve grande melhora do seu quadro clínico, visto que o animal já anda no piquete e o grau de rotação da falange diminuiu de forma gradativa que antes era de 12 graus no membro torácico esquerdo agora é de 7 e no membro torácico direito era de 11.5 agora é de 6.5. A partir de uma nutrição a base de feno, alfafa, ração peletizada e outros suplementos seu escore corporal evoluiu de 1 para 3. As úlceras e a gastrite que o animal apresentava foram solucionadas.

Antes do tratamento o animal só permanecia em decúbito lateral, pois a dor era intensa e provavelmente o nível de cortisol era muito elevado. A dor crônica e a baixa nutrição são componentes suficientes para causar azoospermia em garanhões (ALVARENGA e PAPA, 2009). O animal apresenta dificuldades em se manter em estação o que impede a coleta do sêmen. Realizou-se antes do início do tratamento clínico análise do sêmen para verificar a viabilidade espermática, o resultado foi ausência de viabilidade. Após 90 dias de tratamento repetiu-se a análise, e o mesmo apresentou no ejaculado 4 bilhões de espermatozoides com 70% de motilidade e 3 de vigor, sendo estes, resultados favoráveis para a vida reprodutiva do animal.

A anemia que tinha sido constatada no primeiro hemograma realizado quando o animal foi atendido no hospital foi tratada com uso de Hemolitan que é um suplemento que fornece vitaminas e minerais que participam diretamente na formação e manutenção da integridade de células de multiplicação rápida.

Segundo Stashak é indicado cirurgia para o tratamento da laminite crônica que podem ser a ressecção do tendão flexor digital profundo, ressecção do casco e desmotomia do ligamento cárpico acessório, só que não foi possível nenhum tipo de intervenção devido o grau de infecção bacteriana existente no animal, por isso optou-se tratar primeiramente a infecção existente nos cascos.

O pulso das artérias digitais fica aumentado quando apresenta alguma patologia com componentes inflamatórios ao nível do casco (ADAMS, 1994).

Como o crescimento do casco com laminite crônica tendem a serem maiores nos talões e menores na pinça, por questão de fluxo sanguíneo diminuído na parede dorsal do casco, por isso deve-se realizar o casqueamento corretivo a cada trinta dias ou quando for necessário. E como houve rotação da falange em sentido da sola, devemos colocar na posição mais natural possível, tentando deixa-la mais paralela ao solo para que a falange não faça pressão contra a sola (PARKS,2003).

Durante a realização do pedilúvio com sulfato de magnésio notou-se pouca melhora no quadro clínico daí então foi feita uma nova tentativa com terramicina e também não se obteve sucesso pressupôs-se então uma nova tentativa com sulfato de cobre onde conseguiu-se melhora significativa da infecção da linha branca e das fistulas existentes. Foi realizada também colocação do tamanco ortopédico de madeira com auxílio de gesso obtendo melhora significativa na doença da linha branca, já que só o tamanco ortopédico de madeira já não estava sendo possível ser fixado com parafusos devido ao grau de infecção da linha branca.

Para o tratamento do Garanhão o anti-inflamatório de escolha foi o Firocoxib, pois este além de promover analgesia apresenta maior seletividade cox-2 evitando assim ocorrência de futuras úlceras gástricas no animal mediante o tratamento que seria por tempo prolongado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A terapêutica da laminite representa um desafio para os médicos veterinários de equinos. Os objetivos finais de todas as formas de tratamento administradas incluem o adequado restabelecimento anatômico e funcional do membro afetado, promovendo, ao animal, conforto e conseqüentemente, uma melhor qualidade de vida. Desse modo, a terapêutica proposta para os animais obteve-se bons resultados. No relato de caso I o animal obteve melhora total da afecção, não apresentando mais nenhum grau de rotação da falange distal. No relato de caso II, o animal obteve uma ótima melhora do seu quadro clínico, pois este só se matinha em decúbito e não realizava diversas funções. O animal do relato II ainda está em andamento, pois a rotação da falange distal e a dor ainda estão presentes resultando em claudicação, mas o animal consegue se locomover apresentando alguma dificuldade. Nesse sentido, é de extrema importância que os médicos veterinários de equinos estejam frequentemente atualizando seus conhecimentos, sobre o assunto.

REFERÊNCIAS

ADAMS, O.R.; **Claudicação em equinos segundo Adam's**. 4 ed. São Paulo: Editora Roca, 1994.

ALVARENGA, M.A; PAPA,F.O; **Revista brasileira de reprodução animal**, Belo Horizonte n.6 p.204, dezembro 2009.



BELKNAP, J.K.; PARKS, A. Lameness in the extremities: the foot. In: BAXTER, G.M. **Adams & Stashak's lameness in horses**. 6 ed. UK: Wiley-Blackwell, 2011. cap. 5, p. 536-556.

HUNT, R.J., **Laminitis in the Geriatric Horse**. The Veterinary Clinics Equine Practice, vol 18, p.439-452, 2002.

LEES, P.; *et al.* Pharmacodynamics and pharmacokinetics of non steroidal anti-inflammatory drugs in veterinary species. **Journal Veterinary of Pharmacology and Therapeutics**, n.27, p. 479-490, 2004.

MACHADO, G. V. **Anatomia veterinária I**. Matipó: Faculdade Vértice, v. 1, 2008.
MARTINS FILHO, L.; *et al.* Estudo clínico e laboratorial da fase prodrômica da laminite equina induzida por sobrecarga de carboidrato. **ARS veterinária**. Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 32-39, 2007.

MENDES NETO, E.C.; *et al.* **Rotação de falange distal após laminite crônica em equídeo- Relato de caso**. Revista científica eletrônica de medicina veterinária. Garça- são Paulo, m.18 p.231-239, jan.2012

MIKAIL, S; PEDRO, C. R. **Fisioterapia Veterinária**. Barueri: Editora Manole, 2006.

NICKELS, F. A. Hoof care of a laminitic horse. In: ROSS, M. W.; DYSON, S. J. **Diagnosis and management of lameness in the horse**. St. Louis, Missouri: Elsevier, p. 332-335, 2003.

PARKS, A. H. Treatment of acute laminitis. **Equine Veterinary Education**. Georgia: v. 15, n. 5, p. 273-280, 2003.

POLLITT, C.C. Equine Laminitis: a revised pathophysiology. **Proc. Am. Assoc. Equine Pract**, v. 45, p.188-192, 1999.

RADOSTITS, O. M.. Doenças Específicas de Etiologia Incerta. In: RADOSTITS, O. M.. **Clínica Veterinária – Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p 1633-1638, 2000.

SILVA, G. B. *et al.* **Laminite crônica em equídeos da raça crioula: características clínicas e radiográficas**. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, p.2025-2030, nov.2013.

SMITH, B P; **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. 1 ed. São Paulo: Editora Manole, v. 1, 1994.

STEWART, M.L. How to Construct and Apply Atraumatic Therapeutic Shoes to Treat Acute or Chronic Laminitis in the Horse; **AAEP proceedings**, v. 49, p. 338-345, 2003.

STASHAK, T.S., **Adams Lameness in Horses**; 5 ed.; 2006

THOMASSIAN, A.; *et al.* Patofisiologia e tratamento da pododermatite asséptica difusa nos eqüinos - (Laminite eqüina) / Laminitis pathophysiology and treatment in horses. **Rev. educó contin. CRMV-SP / Continuous Education Journal CRMV-SP**, São Paulo, v. 3, p. 16 - 29, 2000.

